

**RECHERCHE SUR LES PROPRIÉTÉS
PHYTOPROTECTRICES DE COMPOSTS
DE RÉSIDUS CHITINEUX**

par

Cinthia Labrie

Mémoire présenté à la faculté des sciences en vue
de l'obtention du grade de maître en biologie (M.Sc.)

**DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE
FACULTÉ DES SCIENCES
UNIVERSITÉ DE SHERBROOKE**

Sherbrooke, Québec, Canada, septembre 1998

SOMMAIRE



National Library
of Canada

Acquisitions and
Bibliographic Services

395 Wellington Street
Ottawa ON K1A 0N4
Canada

Bibliothèque nationale
du Canada

Acquisitions et
services bibliographiques

395, rue Wellington
Ottawa ON K1A 0N4
Canada

Your file Votre référence

Our file Notre référence

The author has granted a non-exclusive licence allowing the National Library of Canada to reproduce, loan, distribute or sell copies of this thesis in microform, paper or electronic formats.

The author retains ownership of the copyright in this thesis. Neither the thesis nor substantial extracts from it may be printed or otherwise reproduced without the author's permission.

L'auteur a accordé une licence non exclusive permettant à la Bibliothèque nationale du Canada de reproduire, prêter, distribuer ou vendre des copies de cette thèse sous la forme de microfiche/film, de reproduction sur papier ou sur format électronique.

L'auteur conserve la propriété du droit d'auteur qui protège cette thèse. Ni la thèse ni des extraits substantiels de celle-ci ne doivent être imprimés ou autrement reproduits sans son autorisation.

0-612-56922-5

Le 26/6/99, le jury suivant a accepté ce mémoire dans sa version finale.
date

Président-rapporteur: M. Claude Déry
Département de biologie

Membre: Mme Carole Beaulieu
Département de biologie

Membre: M. Ryszard Brzezinski
Département de biologie

Membre: M. Richard Hogue
MAPAQ

SOMMAIRE

Les carapaces d'invertébrés marins (crevettes, crabes et homards) sont principalement constituées de chitine, polymère le plus abondant sur terre après la cellulose. La chitine est également retrouvée dans les téguments d'insectes et dans les parois cellulaires de certains champignons. L'industrie de la pêche et de la transformation des produits marins au Québec produisent des milliers de tonnes de déchets chitineux chaque année. En compostant ces carapaces avec d'autres intrants, il serait possible de les revaloriser tout en conférant à ce compost certaines des caractéristiques très intéressantes de la chitine. En effet, la chitine est reconnue pour posséder de nombreuses propriétés telles sa capacité à inhiber la croissance de certains champignons et à induire les mécanismes de défense chez les plantes.

Des composts ont été produits dans le cadre d'un projet multidisciplinaire qui portait sur la revalorisation de résidus chitineux marins. Divers mélanges constitués de tourbe, de fumier de mouton, de sciures de bois et de carapaces de crevettes ont été compostés, pour produire des composts de résidus chitineux. Des essais de compostage à petite, moyenne et grande échelle ont été faits.

Ce travail a porté sur l'étude des propriétés fongistatiques et phytoprotectrices de composts faits à base de résidus chitineux marins. Nous avons privilégié l'étude de systèmes plante-agent pathogène fongique. Nous avons également évalué les effets individuels des composts sur les champignons phytopathogènes et sur les mécanismes de défense des plantes.

Les effets de nos composts de résidus chitineux sur la croissance des champignons phytopathogènes ont été évalués en produisant des infusions stériles des composts. Les infusions n'avaient pas d'effet inhibiteur sur la croissance des champignons phytopathogènes *Phytophthora fragariae* var. *rubi*, *Pythium ultimum* et *Rhizoctonia solani* à l'exception de

l'infusion de compost FTS(R) (fumier-tourbe-sciure de résineux) amendé mature qui inhibe légèrement la croissance de *Pythium ultimum*.

Les mécanismes de défense des plantes semblent être induits par des infusions de nos composts de résidus chitineux stériles. On a observé une augmentation de la quantité de glucanases, un enzyme impliqué dans les mécanismes de résistance, présente dans des plantules de tomates qui ont crues en présence de ces infusions.

Les expériences faites sur des systèmes plante-agent pathogène fongique ont permis de démontrer que nos composts de résidus chitineux sont capables de diminuer l'incidence ou la sévérité des lésions de certaines maladies. Les composts diminuent significativement la fonte de semis chez le concombre causée par *Pythium ultimum*. Le pourcentage de mortalité des plantules de concombre était considérablement réduit lorsque ceux-ci poussaient dans un sol amendé de composts de résidus chitineux. Chez la pomme de terre, les symptômes de la rhizoctonie présents sur les tiges souterraines sont réduits au minimum par la présence de composts de résidus chitineux dans le substrat de croissance. Les lésions normalement de couleur foncées et sous forme de taches, apparaissent plus pâles et plus allongées en présence des composts.

Chez le fraisier, les composts de résidus chitineux ne semblent pas avoir d'effet inhibiteur sur la stèle rouge causée par le champignon phytopathogène *Phytophthora fragariae* var. *fragariae*. Le taux de mycorhization de *Glomus intraradices* chez le fraisier diminue en présence des composts mais cette baisse s'est révélée non significative.

REMERCIEMENTS

Je remercie grandement ma directrice, le Dr. Carole Beaulieu, ainsi que mon co-directeur, le Dr. Richard Hogue, pour leur soutien, leurs nombreux conseils et l'encouragement qu'ils m'ont prodigués. Merci.

Je désire également remercier le Dr. Ryszard Brzezinski, Sébastien Roy, Philippe Leclerc et tous les autres participants à ce projet multidisciplinaire de compostage pour leur collaboration et leur aide durant cette maîtrise.

Je remercie mes collègues de laboratoire et mes stagiaires pour leurs encouragements et pour les belles journées de travail passées en leur compagnie.

Merci à ma meilleure amie Isabelle et à mon copain Sébastien pour m'avoir poussée dans les derniers kilomètres.

Je veux offrir un merci tout spécial à mon père pour son soutien moral et financier durant mes études et à ma mère qui de là-haut me surveille et m'aide.

TABLE DES MATIÈRES

SOMMAIRE.....	ii
REMERCIEMENTS.....	iv
TABLE DES MATIÈRES.....	v
LISTE DES ABBRÉVIATIONS.....	viii
LISTE DES TABLEAUX.....	x
LISTE DES FIGURES.....	xii
 CHAPITRE 1 – INTRODUCTION.....	 1
 CHAPITRE 2 - MATÉRIEL ET MÉTHODES.....	 13
2.1 Compostage.....	13
2.1.1 Composition et nomenclature des composts.....	13
2.1.2 Procédés de compostage.....	14
2.2 Plantes, microorganismes et composts utilisés pour cette étude.....	17
2.3 Préparation d'infusion de compost.....	21
2.4 Croissance de champignons phytopathogènes en présence d'infusion de compost.....	21
2.5 Dosage de la NHF.....	22
2.5.1 Principe.....	22
2.5.2 Digestion enzymatique et dosage d'aminosucres.....	22
2.6 Dosage des PR protéines (glucanases et chitinases) chez les plantules de tomates ayant germées en présence d'infusion de compost.....	23
2.6.1 Extrait végétal.....	23
2.6.2 Dosage enzymatique des sucres réducteurs.....	24
2.6.3 Détermination de la concentration en protéines totales de l'extrait végétal ..	25

2.7 Test du pouvoir pathogène de divers agents pathogènes en présence de composts de résidus chitineux	26
2.7.1 Test du pouvoir pathogène de <i>Pythium ultimum</i> sur le concombre	26
2.7.1.1 Inoculum	26
2.7.1.2 Essai en chambre de croissance	26
2.7.2 Test du pouvoir pathogène de <i>Phytophthora fragariae</i> sur le fraisier	27
2.7.2.1 Inoculum	27
2.7.2.2 Essai en chambre de croissance	28
2.7.2.3 Coloration des racines	29
2.7.2.4 Technique de comptage des oogones de <i>Phytophthora</i>	29
2.7.3 Test du pouvoir pathogène de <i>Rhizoctonia solani</i> sur la pomme de terre ...	30
2.7.3.1 Inoculum	30
2.7.3.2 Essai en serre	30
2.8 Test de la mycorhization de <i>Glomus intraradices</i> sur le fraisier en présence de composts de résidus chitineux	32
2.8.1 Inoculum	32
2.8.2 Essai en chambre de croissance et coloration des racines	33
2.8.3 Technique de comptage des racines de fraisiers mycorhizées	33
CHAPITRE 3 – RÉSULTATS	35
3.1 Croissance de champignons phytopathogènes en présence d'infusion de compost	35
3.2 NHF et inhibition de croissance des champignons phytopathogènes durant le compostage	39
3.3 Dosage des PR protéines (glucanases et chitinases) chez les plantules de tomates ayant germées en présence d'infusion de compost	41
3.4 Pouvoir pathogène de divers agents pathogènes en présence de composts de résidus chitineux	44

3.4.1 Pouvoir pathogène de <i>Pythium ultimum</i> sur le concombre	44
3.4.2 Pouvoir pathogène de <i>Phytophthora fragariae</i> sur le fraisier	46
3.4.3 Pouvoir pathogène de <i>Rhizoctonia solani</i> sur la pomme de terre	47
3.5 Mycorhization de <i>Glomus intraradices</i> sur le fraisier.	49
CHAPITRE 4 – DISCUSSION	59
CHAPITRE 5 – CONCLUSION	68
BIBLIOGRAPHIE	70

LISTE DES ABBRÉVIATIONS

cm:	centimètre
C/N:	ratio carbone/azote
CRIQ:	Centre de recherche industrielle du Québec
g:	gramme
GRBA:	Groupe de recherche en biologie des actinomycètes
GT:	glycérol/ tampon acétate (1:1)
HCl:	acide chlorydrique
H ₂ O ₂ :	peroxyde d'hydrogène
KOH:	hydroxyde de potassium
L:	litre
m:	mètre
MAPAQ:	Ministère de l'Agriculture, des Pêcheries et de l'Alimentation du Québec
min:	minute
ml:	millilitre
mm:	millimètre
mM:	millimolaire
ms:	masse sèche
NHF:	fraction hydrolysable de la N-acétyl-glucosamine
nm:	nanomètre
PDA:	potato dextrose agar
PDB:	potao dextrose broth
P R:	pathogenesis-related
rpm:	rotations par minute
U:	unité
µl:	microlitre

μm : micromètre

μM : micromole

v: volume

LISTE DES TABLEAUX

1. Graines, plantes et tubercules utilisés pour cette étude	18
2. Microorganismes utilisés pour cette étude	19
3. Composts utilisés pour cette étude	20
4. Taux de croissance de <i>Phytophthora fragariae</i> var. <i>rubi</i> souche 390 dans un milieu PDB contenant des infusions de compost mature	36
5. Taux de croissance de <i>Pythium ultimum</i> souche 447 dans un milieu PDB contenant des infusions de compost mature	37
6 Taux de croissance de <i>Rhizoctonia solani</i> AG3 dans un milieu PDB contenant des infusions de compost mature.	38
7. Mortalité des plantules de concombre ayant crû en présence de différents composts matures inoculés ou non par <i>Pythium ultimum</i> souche 447	45
8. Indice d'infection de <i>R. solani</i> sur les tiges souterraines de pommes de terre cultivées en présence de différents composts mature.	51
9. Aspect visuel général des lésions causées par <i>R. solani</i> sur les plants de pomme de terre cultivées en présence de différents composts matures	52

10. Indices de sévérité de la rhizoctonie observées sur les tiges souterraines de pommes de terre poussées en présence de différents composts matures	57
---	----

LISTE DES FIGURES

1. Structure de la chitine et du chitosane	10
2. Graphique général des températures observées durant le compostage	15
3. Aspect de l'incubateur du compostage à petite échelle	16
4. Comparaison entre la NHF de compost CT ₂ S(R) ₂ et CT ₂ S(F) ₂ et le pourcentage d'inhibition de croissance de <i>Phytophthora fragariae</i> d'infusion provenant de ces composts	40
5. Activité glucanolytique de plantules de tomates ayant germées en présence ou en absence de 15% d'infusion de compost	42
6. Activité chitinolytique de plantules de tomates ayant germées en présence ou en absence d'infusion de compost	43
7. Indice d'infection de <i>Phytophthora fragariae</i> var. <i>fragariae</i> sur le fraisier cultivé en présence de composts matures à base de résidus chitineux	48
8. Tige de pomme de terre ayant poussé dans un terreau contenant du compost commercial à base de résidus chitineux	53
9. Lésions causées par <i>Rhizoctonia solani</i> sur les tiges de pomme de terre de plants ayant poussé dans un terreau contenant du compost commercial à base de résidus chitineux . .	54

10. Lésions causées par *Rhizoctonia solani* sur les tiges de pomme de terre de plants ayant poussé dans un terreau contenant du compost FTS(R) amendé 55
11. Lésions causées par *Rhizoctonia solani* sur les tiges de pomme de terre de plants ayant poussé dans un terreau contenant du compost CT₂S(R)₂ amendé 56
12. Indice de mycorhization de *Glomus intraradices* sur le fraisier ayant poussé en présence de composts à base de résidus chitineux matures. 58

CHAPITRE 1

INTRODUCTION

Nous vivons dans un siècle où l'industrialisation, la commercialisation et la technologie ont connu un essor flamboyant. Avant l'industrialisation, la production de biens était artisanale. Il était long et ardu de produire et d'obtenir un bien. Il était donc très important de les conserver le plus longtemps possible.

Au Moyen Âge, les gens utilisaient au maximum les ressources. On réutilisait et transformait tout ce que l'on possédait pour leur redonner une seconde utilité. Lorsque les gens se débarrassaient de leurs déchets, ceux-ci étaient compostés, enfouis, brûlés ou servaient de nourriture pour les animaux (de Silguy, 1996). Il y avait peu de perte. Avec l'urbanisation et la création des grandes villes, on a laissé tomber ces méthodes de disposition des déchets. Les ordures se sont alors entassées dans les rues, favorisant d'énormes fléaux, comme la peste. Rapidement, il a fallu trouver de nouveaux moyens d'user de ces ordures, il était essentiel de les éloigner de la ville. La collecte des détritiques et l'enfouissement ont été parmi les solutions développées.

Au début du XIX^{ème} siècles, plusieurs inventions ont été développées et adoptées à grande échelle. Ces inventions ont révolutionné la façon de travailler. L'invention la plus connue est la machine à vapeur de James Watt, créée en 1782. L'industrie connaît alors une révolution grâce à l'utilisation de la vapeur et du charbon. Durant ces années, nous commençons à connaître des procédés nouveaux et des moyens de production neufs (Rioux, 1971). Ces nouvelles sources d'énergie propulsent les industries dans une frénésie de production. L'apparition du train et des nombreuses voies ferroviaires vont aider à augmenter les marchés de vente. Par la suite, une deuxième révolution industrielle apparaît avec l'arrivée de l'électricité, du pétrole et du moteur à explosion. La chimie appliquée et la découverte de nouveaux métaux sont des facteurs qui

vont permettre la continuation de la poussée de l'industrialisation (Lessourd et Gérard, 1992). Cette révolution industrielle engendrera une nouvelle société basée sur la consommation.

La civilisation industrielle a renforcé les problèmes d'élimination des déchets. La masse des déchets s'est accrue progressivement pendant des siècles, puis dans les dernières décennies, il y a eu évolution exponentielle avec l'accélération du cycle de production, consommation, rejet (de Silguy, 1996). Tout bien est disponible immédiatement et en grande quantité. Il est facile de remplacer tout objet en mauvais état par un objet plus récent. Les objets sont devenus jetables. Comme dit de Silguy (1996): " les choses sont éphémères et déclarées obsolètes après une durée de vie limitée."

De nos jours au Québec, chaque personne produit en moyenne quelque 400 Kg de déchets par année. En 1992 seulement, nous avons produit quelque 7,2 millions de tonnes de résidus solides (Deshaies et Bernatchez, 1994). Pour disposer de toute cette masse de déchets, les systèmes de collection sont essentiels. Les déchets sont ramassés par camion et enfouis dans des sites d'enfouissement. L'enfouissement a été pendant plusieurs années considéré comme la solution miracle pour se débarrasser des ordures. Cependant, les sites d'enfouissement se remplissent et il devient plus difficile d'en créer de nouveaux. Plusieurs déchets ne sont pas décomposables: les plastiques, le verre et les styrofoams en sont des exemples alors que d'autres déchets, comme les huiles et les peintures, sont nocifs pour l'environnement. Le problème est grand, il y a un manque de places pour enfouir les déchets et certains sites polluent grandement les sols et les eaux. Il est donc essentiel de trouver de nouveaux modes de gestion de déchets. Pourquoi ne pas réutiliser certains déchets, tout comme le faisaient nos ancêtres?

Depuis le début des années 1980, de plus en plus de pays considèrent le recyclage et le compostage comme des moyens de réduire nos quantités de déchets de façon appréciable. Le gouvernement du Québec a adopté, en 1989, la Politique de gestion intégrée des déchets

solides. Cette politique soutient deux grands objectifs: premièrement, réduire de 50% la quantité de déchets d'ici l'an 2000; et deuxièmement, rendre adéquats et sécuritaires les moyens d'élimination (Deshaies et Bernatchez, 1994). Pour relever ce défi, il y a un principe d'action à intégrer dans notre mode de vie, nommé le principe des 3RVE (Pelletier, 1993). Dans l'ordre, il s'agit de la Réduction à la source de la quantité de résidus, le Réemploi des biens, le Recyclage des matières secondaires, la Valorisation (compostage) et l'Élimination sécuritaire des déchets (Deshaies et Bernatchez, 1994; Pelletier, 1993). Aujourd'hui, le recyclage fait partie de la vie courante de plusieurs québécois et québécoise. Le compostage commence à compter de plus en plus de fervents.

Le compostage

Le compostage constitue un processus contrôlé de décomposition naturelle. Il permet de réduire le volume de déchets alimentaires et autres matières organiques décomposables et de les transformer en un additif du sol (TRNEE, 1991). Le compostage n'est pas un phénomène nouveau, mais ce n'est qu'au début de ce siècle que l'on a raffiné les techniques de compostage. On peut définir le compostage comme un traitement biologique aérobie, sous conditions contrôlées, où la matière organique est transformée par les microorganismes. Il en résulte un produit organique stable de couleur brun foncé et riche en humus, qui a l'apparence et l'odeur d'un terreau, et que l'on nomme le compost (Pelletier, 1993). Le compost peut être utilisé comme amendement à un sol. Il est de plus en plus utilisé par les horticulteurs pour augmenter la qualité nutritionnelle et structurelle de leur terreau.

Le compostage peut être fait de diverses façons selon les coûts et l'espace disponible. Le système en andains est la technique la plus populaire et la plus facile à réaliser, puisque la technologie impliquée y est minime. Il consiste à disposer les matériaux à composter en une pile longue et étroite. Ces andains sont souvent à l'extérieur, sensibles aux intempéries, on les protège donc parfois avec une bâche. On peut ajouter des systèmes d'aération forcée et des

systèmes de brassage. Les composts peuvent aussi être produits en bioréacteur. Les bioréacteurs permettent de contrôler la dégradation du compost de façon très précise. Le temps de compostage est plus court avec cette technique et l'espace utilisé est réduit. En revanche, le compostage en bioréacteur est très coûteux (Potvin et Cloutier, 1990).

Pour produire le compost, les microorganismes utilisent la matière organique combinée à de l'eau et de l'oxygène et la transforment en humus, nitrates, azotes organiques, phosphates, nutriments et autres. Il y a également dégagement de dioxyde de carbone, de chaleur et d'eau (Dionne, 1995). On retrouve dans le compost différents types bactériens dont des actinomycètes, des champignons et des protozoaires. La microflore du compost se modifie durant le compostage selon les conditions du milieu. Certains microorganismes vont stopper leur croissance et laissent alors la place à d'autres plus spécialisés et capables de dégrader la matière organique difficilement décomposable. Durant le compostage, il faut surveiller des facteurs qui permettent la survie de ces microorganismes dégradateurs. Ces facteurs sont la température, l'humidité, l'aération, le pH et les nutriments. Ils vont déterminer le taux et la vitesse de dégradation.

La température

L'activité microbienne amène un dégagement de chaleur et permet au compost d'atteindre des températures autour de 60°C. On appelle cette montée de température, la phase thermophile. Cette température élevée, lorsque maintenue pendant une période minimale de trois jours (en réacteur ou en tas statique aéré) ou de 15 jours (en andains extérieurs retournés 5 fois par jour), permet de détruire les microorganismes pathogènes animaux et les graines de mauvaises herbes (Bureau de normalisation du Québec, 1994; U.S.-EPA, 1993). Avant et après la phase thermophile, le compost est en phase mésophile, et il se maintient à environ 20-25°C. Il y a un changement dans la microflore du compost lorsque l'on passe de la phase mésophile à la phase thermophile. En effet, les microorganismes mésophiles ne peuvent se développer à des

températures élevées. Ce sont les microorganismes thermophiles qui vont prendre la relève. Lorsque la température du compost redescendra à 20-25°C, la microflore se verra de nouveau transformée. On retrouvera des microorganismes thermophiles capables de supporter ces nouvelles températures et certains microorganismes recoloniseront le compost (Hoitink et Grebus, 1994).

L'humidité

Les microorganismes ont besoin d'eau pour leurs activités métaboliques et elle est donc essentielle à leur survie. Il est très important que le compost soit bien humidifié, puisque la dégradation de la matière organique se fait en présence d'eau. L'humidité et l'aération sont étroitement reliées. L'air est contenu entre les particules de substrat du compost. Si la teneur en eau est trop élevée, l'eau s'infiltre dans les interstices et déplacera l'air. Des conditions anaérobies se développeront (Diaz *et al*, 1993; Mustin, 1987). Il pourra également y avoir production de lixiviats. La teneur en eau maximale du compost dépendra des intrants. Un compost contenant en majorité des sciures de bois, du foin ou de la paille peut atteindre une teneur en eau maximale d'environ 75 à 80% (Diaz *et al*, 1993). Une teneur en eau trop faible va ralentir le mécanisme de dégradation. L'activité microbienne cesse lorsque le pourcentage d'humidité du compost descend en bas de 8 à 12%. Généralement, on maintient l'humidité à un niveau au-dessus de 40% (Diaz *et al*, 1993).

L'aération

Puisque le compostage est un traitement fait en conditions aérobies, il importe de fournir de l'air au compost. L'aération permet au compost d'atteindre des températures élevées (en évitant l'anaérobie), d'augmenter la vitesse de dégradation et de diminuer les odeurs. Le compost peut être aéré en lui faisant subir des retournements ou brassages périodiques. Cette technique est pratique et demande peu d'équipement. Le désavantage est que l'apport d'oxygène au compost

est discontinu (Dionne, 1995). On peut aussi forcer l'aération dans le compost en disposant des tuyaux sous les andains. Le système d'aération pousse ou aspire l'air dans le compost provoquant une circulation d'air.

Le pH

Il est évident que le pH propice au compostage est un pH qui permet le développement normal des microorganismes endogènes au compost, ce pH oscille autour de la neutralité (Mustin, 1987).

On peut observer des variations de pH durant le compostage. Chaque intrant a son propre pH. La tourbe a un pH entre 4 et 5, les sciures de bois ont un pH habituel de 5 (sciures d'épinettes-sapins ont un pH de 6) et les carapaces de crevettes ont un pH entre 7 et 8. Le pH du compost sera donc influencé par les intrants qu'il contient, mais aussi par le métabolisme des microorganismes lors du compostage (Mustin, 1987). Par exemple, un compost de carapaces de crevettes, de tourbe et de sciures de résineux mélangés en proportions égales aura un pH initial de 8 à 8,5; alors qu'un compost de carapaces de crevettes, de tourbe et de sciures de résineux mélangés en proportions 1: 2: 2 aura un pH initial de 6,5 à 7. Le pH subit généralement une baisse peu après le début du compostage due à la production d'acides organiques par les microorganismes. Le pH d'un compost peut descendre jusqu'à une valeur de 5 (Diaz *et al*, 1993). La production d'acides organiques favorise la croissance de certains microorganismes. Ces microorganismes vont métaboliser les acides organiques et alors le pH augmentera et pourra atteindre des valeurs oscillant entre 8 et 9 (Diaz *et al*, 1993; Dionne, 1995). Le pH final du compost est généralement près de la neutralité.

Les nutriments

Les nutriments provenant des substrats à composter peuvent être divisés en deux catégories: les macro-nutriments et les micro-nutriments. Les macro-nutriments comprennent le carbone (C), l'azote (N), le phosphore (P) et le potassium (K); les micro-nutriments (ou oligo-éléments), incluent le manganèse (Mn), le cuivre (Cu), le fer (Fe) et plusieurs autres minéraux. Même si les nutriments sont présents dans le compost, ils doivent être sous forme assimilable par les microorganismes. Certains substrats comme la cellulose et la chitine, sont relativement résistants à la dégradation par les microorganismes, peu d'organismes les dégradent. Les microorganismes cellulolytiques et chitinolytiques, principalement des actinomycètes, en sont capables et les composés résultant de cette dégradation sont assimilés par leur métabolisme. D'autres microorganismes vivant à proximité de ces derniers peuvent également bénéficier de ces nouveaux composés.

Une notion importante du compostage est le ratio carbone/azote (C/N). Les microorganismes utilisent le carbone et l'azote principalement comme source d'énergie et de nourriture (Pelletier, 1993). La grande partie du carbone utilisé par les microorganismes est transformée en dioxyde de carbone lors de l'activité métabolique. Le reste servira à synthétiser des composés cellulaires tels que des protéines. L'azote sert plus particulièrement à la synthèse d'acides aminés, de protéines cellulaires et d'acides nucléiques (Pelczar *et al*, 1986). Beaucoup plus de molécules de carbone que d'azote sont nécessaires. La proportion d'utilisation de ces deux éléments par les microorganismes est d'environ 20 à 30 carbones pour un azote (Pelletier, 1993; Diaz *et al*, 1993). Le ratio C/N du compost devrait être du même ordre. Cependant, les substrats utilisés pour le compostage ont des proportions de carbone et d'azote variables. Il faut donc équilibrer le ratio C/N en utilisant des substrats équilibrés ou en mélangeant des substrats riches en azote avec d'autres riches en carbone. Si le ratio est trop élevé, donc en excès de carbone, il y aura ralentissement du processus de dégradation. Si le ratio est trop faible, il y a excès d'azote et les surplus seront perdus sous forme d'ammoniac volatil,

provoquant des odeurs désagréables (Pelletier, 1993; Diaz *et al*, 1993). Le ratio C/N est important lorsque le compost est utilisé pour favoriser la croissance de végétaux

La chitine et le chitosane

Au Québec seulement, les déchets chitineux d'invertébrés marins provenant de l'industrie de transformation alimentaire constituent une source de déchets de l'ordre de 9000 tonnes métriques par année. Les déchets chitineux marins comprennent les carapaces de crabes, de crevettes et de homards. Ces déchets causent des problèmes de pollution, quand ils sont rejetés en mer ou encore enfouis dans le sol. Cette biomasse est pourtant réutilisable et est de plus en plus recherchée pour les propriétés intéressantes de son constituant principal, la chitine.

La chitine est le polymère le plus abondant sur la terre après la cellulose. Elle est présente dans les carapaces d'invertébrés marins, dans les téguments et l'exosquelette d'insectes et dans la paroi cellulaire de la plupart des champignons. La chitine est un carbohydrate polymérique formé de N-acétyl-glucosamine, un aminosucre, (figure 1). Les monomères de N-acétyl-glucosamine sont liés entre eux par des liens glycosidiques β -1-4 qui sont rompus lors d'une digestion enzymatique. Les oligomères sont les produits de l'hydrolyse de ces liens.

La chitine peut être retrouvée dans la nature sous une forme partiellement déacétylée que l'on appelle le chitosane (Seng, 1987). Le pourcentage de déacétylation peut varier. Généralement, le pourcentage de déacétylation du chitosane est d'environ 80%. Il est aussi possible de produire du chitosane chimiquement avec l'utilisation de composés alcalins.

La chitine, le chitosane et leurs oligomères possèdent de nombreuses propriétés intéressantes. La charge positive du chitosane en fait un très bon agent floculant. La chitine est biocompatible et bioactive, elle agit entre autre comme agent hémostatique. La chitine stimule la microflore du sol à produire des enzymes qui dégradent la chitine. Ces enzymes peuvent

attaquer des organismes pathogènes dont les parois sont constituées de chitine (Technical Insights, 1989). Les oligomères de chitosane sont capables de stimuler les mécanismes de résistance des plantes (Hadwiger *et al*, 1994; El Ghaouth *et al*, 1994). Les oligomères de chitine et de chitosane sont fongistatiques (capables d'inhiber la croissance de champignons) dont plusieurs champignons phytopathogènes comme: *Alternaria*, *Rhizopus*, *Fusarium*, *Venturia*, *Rhizoctonia*, *Botrytis*, etc (Hadwiger and Beckman, 1980; Hirano et Nagao, 1989). Ces propriétés font de la chitine et du chitosane des produits pouvant être utilisés dans de nombreux secteurs de l'économie. Parmi ces secteurs, notons: l'industrie pharmaceutique, cosmétique, la biotechnologie, l'alimentation, le traitement des eaux et des déchets et l'agriculture (Technical Insights, 1989).

Mécanismes de défense de la plante

Les plantes ont développé des systèmes de défense envers les agents pathogènes. L'induction des mécanismes de résistance chez la plante active la synthèse de nombreux composés permettant à la plante de se défendre contre ses agresseurs. Premièrement, la plante va renforcer ses parois cellulaires en formant des dépôts de callose, de cellulose ou de gomme autour du site d'infection. Il y aura production de PR protéines. Certaines PR protéines sont des enzymes hydrolytiques qui sont capables de dégrader les parois microbiennes. Par exemple, des PR protéines ont des activités chitinases et glucanolytiques qui vont dégrader les parois fongiques alors que certaines PR protéines peuvent agir sur la paroi bactérienne grâce à une activité lysozyme. Des phytoalexines seront aussi produites en grandes quantités. Les phytoalexines sont des composés de nature phénolique, de faibles poids moléculaires, possédant des activités antimicrobiennes et toxiques.

Les mécanismes de défense se mettent en branle lorsque la plante détecte la présence d'éliciteurs. Les éliciteurs sont donc des molécules capables d'induire chez la plante des mécanismes de défense, dont la production de PR protéines et de phytoalexines. Les éliciteurs

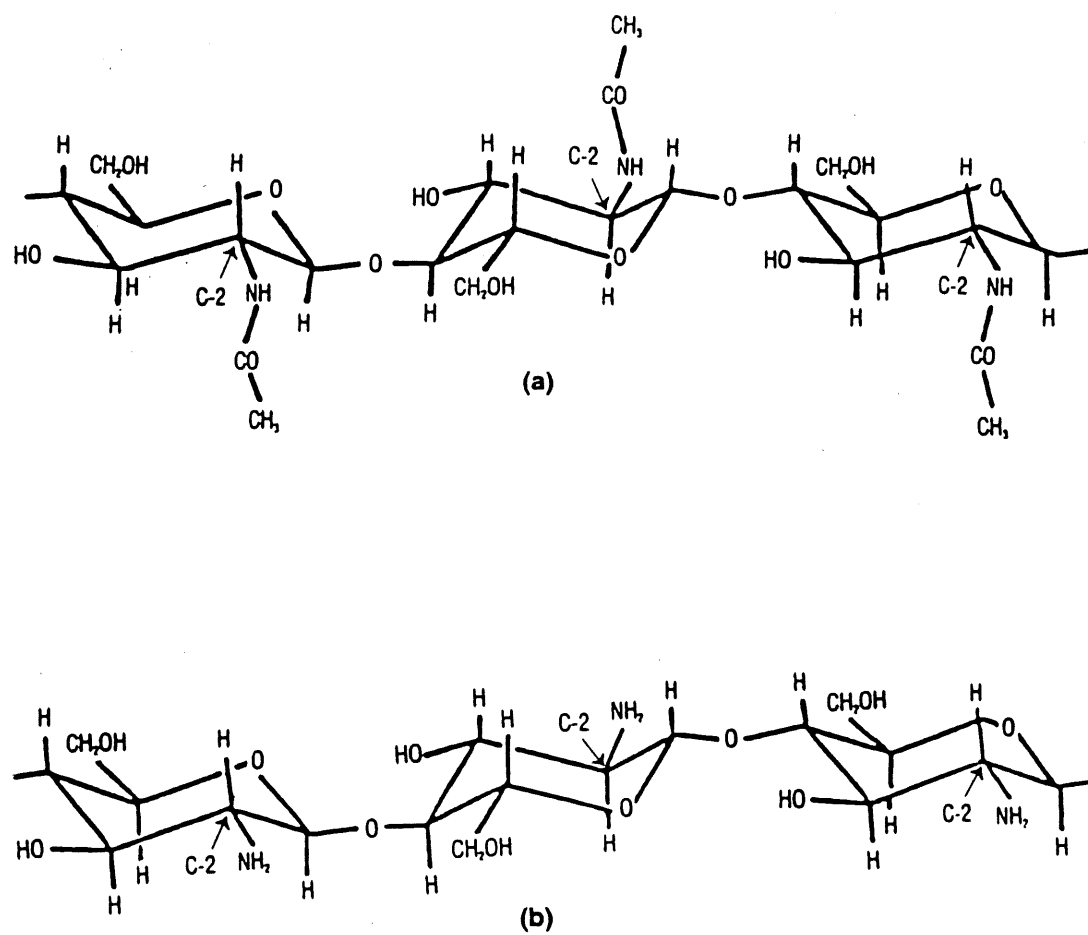


Figure 1 Structure de la chitine et du chitosane.

(a) chitine et (b) chitosane.

peuvent être d'origine microbienne, on les nomme alors les exoéliciteurs. Les exoéliciteurs proviennent de la dégradation de la paroi fongique ou de la paroi bactérienne, ce sont donc des oligomères de glucane, de chitine ou de chitosane. Ces fragments, si reconnus par la plante stimuleront ses mécanismes de défense. Les éliciteurs peuvent aussi être des produits de dégradation de la paroi végétale par les enzymes fongiques ou bactérienne (cellulases), ceux-ci sont nommés les endoéliciteurs.

Le mécanisme par lequel les éliciteurs induisent la production de molécules défensives n'est pas totalement élucidé. On sait que les oligomères de chitosane de 7-8 résidus induisent optimalement l'accumulation de pisatine (une phytoalexine) chez le pois (Hadwiger *et al*, 1994). L'induction des mécanismes de défense par le chitosane a été observée chez plusieurs plantes dont le pois, le soya, le persil et la tomate (Hadwiger *et al*, 1994). Les oligomères de chitosane s'accumulent dans les cellules végétales du pois et plus sélectivement dans le noyau (Kendra et Hadwiger, 1984). Il a été suggéré que les oligomères de chitosane influenceraient la structure de la chromatine grâce à l'affinité du chitosane de se lier à l'ADN (Hadwiger *et al*, 1984). Il pourrait alors activer les gènes codant pour les molécules défensives de la plante.

Considérant les propriétés de la chitine et de ses dérivés, nous avons émis l'hypothèse que certains composts à base de résidus chitineux marins pourraient avoir des effets bénéfiques sur la protection des plantes envers certains organismes phytopathogènes comme éliciteurs des mécanismes de défense et comme inhibiteurs de la croissance des champignons phytopathogènes.

Objectifs de ce projet

Ce travail de maîtrise s'inscrit dans la cadre d'un projet multidisciplinaire consistant à revaloriser les résidus chitineux marins et à les utiliser pour produire un compost possédant des propriétés fertilisantes, fongistatiques et phytoprotectrices intéressantes. Plusieurs

participants de divers domaines se sont regroupés pour participer à ce projet. En génie, les participants étudient les techniques de compostage et font des études de marché. Les biologistes produisent les composts, évaluent les paramètres physico-chimiques de ceux-ci, font des études microbiologiques et étudient les caractères phytoprotecteurs et fongistatiques du compost. En agriculture, le compost est étudié pour ses propriétés fertilisantes et l'effet de celui-ci sur les rendements végétaux. Les participants en sciences humaines font des enquêtes sur la perception des agriculteurs face au compostage.

L'objectif principal de ce projet de maîtrise est d'étudier les propriétés fongistatiques et phytoprotectrices des composts de résidus chitineux marins qui ont été produits dans le cadre de cette étude. Il était important de déterminer le rôle des composantes biologiques et physico-chimiques dans l'effet phytoprotecteur de nos composts. Nous avons testé la capacité des composts à réduire ou inhiber la croissance de champignons phytopathogènes. Nous avons vérifié la capacité du compost à induire la production de PR protéines, plus particulièrement les chitinases et les glucanases chez la tomate. Nous avons aussi étudié les effets protecteurs des composts avec des systèmes plante hôte/agent pathogène. Nous avons étudié la rhizoctonie de la pomme de terre, la fonte de semis du concombre et la stèle rouge chez le fraisier. Nous avons également évalué les effets des composts sur la relation symbiotique d'un champignon endomycorhizien à vésicules et à arbuscules avec les racines du fraisier.

CHAPITRE 2

MATÉRIEL ET MÉTHODES

2.1 Compostage

2.1.1 Composition et nomenclature des composts

Pour produire des composts de résidus chitineux, plusieurs intrants permettant d'équilibrer le ratio C/N et de donner de la structure au compost ont été utilisés conjointement aux carapaces de crevettes, soit des sciures de bois de résineux et de feuillus, de la tourbe, des feuilles, de l'urée. Après plusieurs essais de compostage, les intrants carapaces de crevettes, tourbe et sciures de bois ont été retenus puisque les composts faits à partir de ces intrants étaient excellents au niveau de la qualité fertilisante et produisaient le minimum d'odeur et de lixiviats (Leclerc, 1996; Roy, 1996).

Pour identifier rapidement les intrants de nos composts, nous avons utilisé la nomenclature suivante:

C.....carapaces de crevettes
T.....tourbe
S (F).....sciures de bois de feuillus
S (R).....sciures de bois de résineux
F.....fumier

Ainsi par exemple, un compost fait de carapaces de crevettes, de tourbe et de sciures de résineux sera identifié CTS(R). Puisque la plupart des intrants ont été co-compostés en proportions variables, nous identifions les proportions à l'aide d'un nombre placé en indice et suivant la lettre identifiant l'intrant. Donc, un compost fait de carapaces de crevettes, de tourbe et de sciures de résineux en proportions 1: 2: 2 sera identifié selon la nomenclature $CT_2S(R)_2$. A moins d'avis contraires, des sciures de résineux (pin et épinette) ont été utilisés dans la fabrication des composts.

Durant le compostage, des amendements en carapaces de crevettes ont été ajoutés aux composts (Roy, 1996). Ces amendement ont été calculés en pourcentage de masse sèche de carapaces/masse sèche du compost. Ces amendements étaient généralement de 30 % ms/ms. Ils étaient ajoutés aux composts suite à la première phase thermophile soit lorsque la température des composts retombait aux environ de 25°C.

2.1.2 Procédés de compostage

Les composts ont été produits à petite, moyenne et grande échelle. Le compostage à petite échelle se déroulait dans des bocal en plastique de 4 litres. Ils étaient déposés dans un incubateur qui permettait d'imposer les températures aux composts, puisque le volume des bocal était trop petit pour permettre aux microorganismes de générer assez de chaleur pour que les substrats à composter maintiennent des températures élevées. En général, les températures imposées suivaient le patron présenté à la figure 2. Cette courbe de température a été choisie parce qu'elle représentait les températures observées dans les composts produits à moyenne et à grande échelle. Les bocal étaient munis d'ouvertures aux deux extrémités, pour permettre une aération des composts (fig. 3). L'incubateur était équipé d'un système d'aération grâce à une pompe qui aspirait l'air contenu dans les bocal forçant par le fait même l'entrée

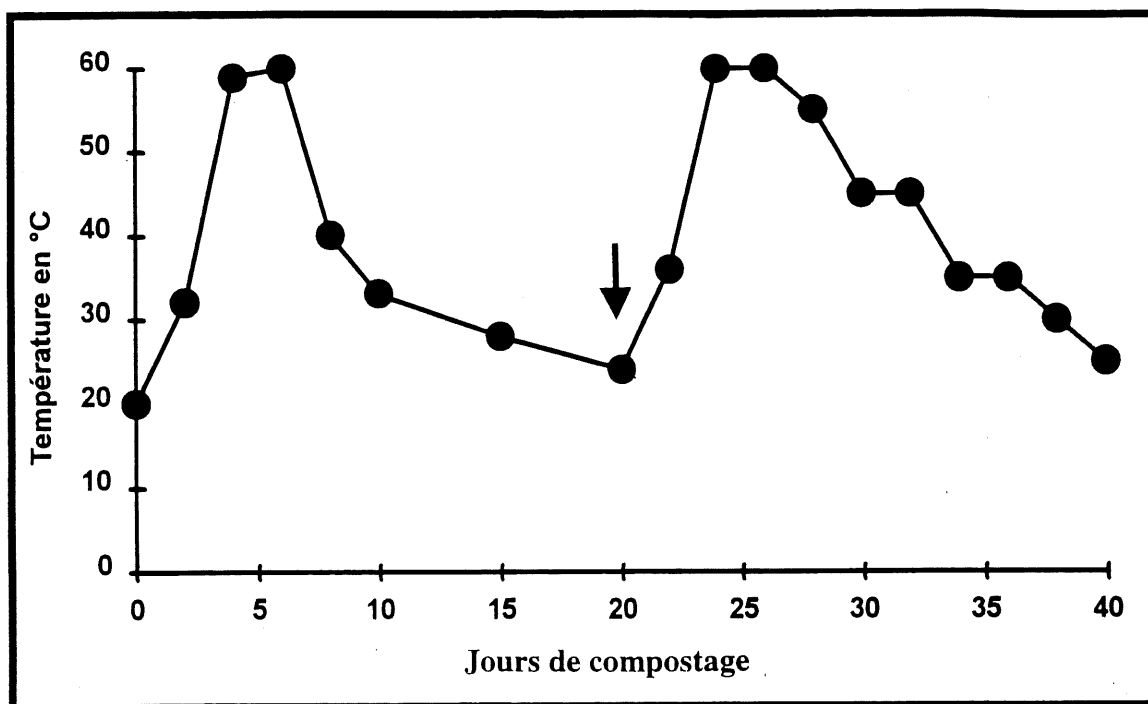


Figure 2 Graphique général des températures observées durant le compostage.

La flèche indique le moment où il y eu un amendement de 30% ms/ms en carapaces de crevettes.

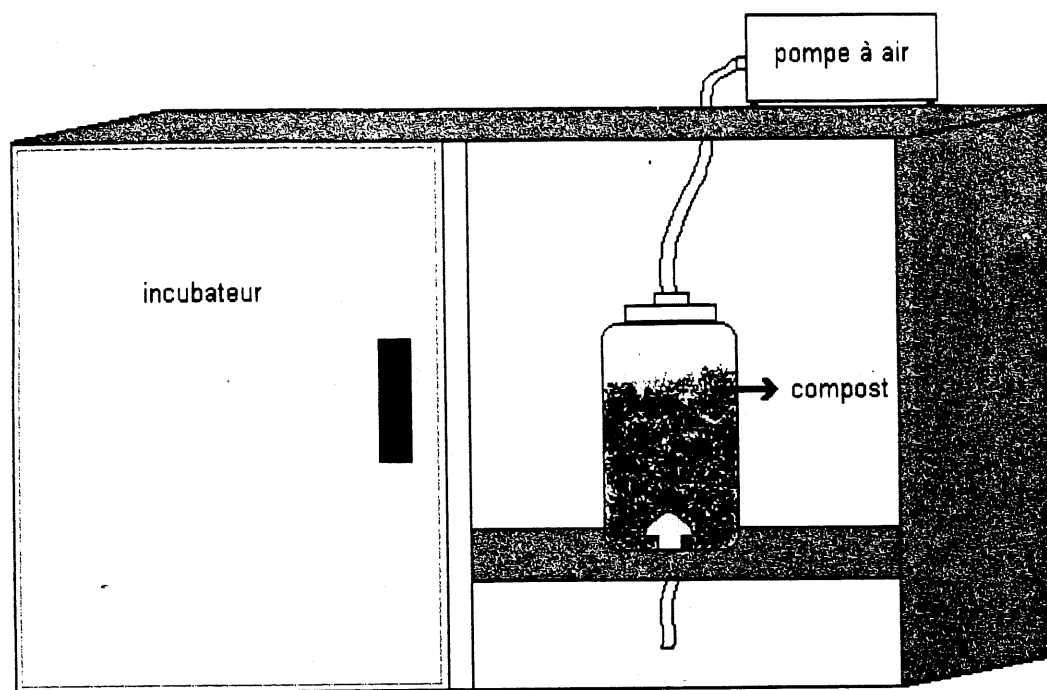


Figure 3 Aspect de l'incubateur du compostage à petite échelle

d'air par le dessous des bocal (Fig.3). L'air qui entre dans les bocal provient directement de l'incubateur de façon à garder une température stable. Il y avait 6 périodes d'aération par jour et chacune d'entre elles durait 20 minutes.

Le compostage à moyenne et à grande échelle a été fait au CRIQ à Sainte-Foy. Les composts à moyenne échelle ont été produits dans des contenants de plastique isolés de 120 L où le volume du compost était de 50 L. Ces contenants étaient équipés d'un système d'aération forcée. Il y avait 6 périodes d'aération de 50 minutes par jour. Le compostage à grande échelle a été fait en andain de 20 m³ à l'extérieur, sur une plate-forme abritée, avec des retournements hebdomadaires réguliers.

2.2 Plantes, microorganismes et composts utilisés pour cette étude

Les graines, les tubercules et les plantes utilisés pour cette étude sont énumérés au tableau 1.

La liste des microorganismes utilisés dans cette étude est énumérée dans le tableau 2. Les champignons *Phytophthora*, *Pythium* et *Rhizoctonia* ont poussé sur des pétris PDA, pendant 2 à 4 semaines à 25-30°C, à l'obscurité avant leur utilisation pour les essais.

Les composts utilisés pour cette étude sont décrits dans le tableau 3.

Tableau 1 Graines, tubercules et plantes utilisées pour cette étude.

Graine, tubercule et plante	Provenance
Graines de concombre (<i>Cucumis sativus</i>) cultivar "Sweet slice"	W. H. Perron Québec, Québec
Graines de concombre (<i>Cucumis sativus</i>) cultivar "Carmen"	Gérard Bourbeau et Fils inc. Charlesbourg, Québec
Graines de tomates (<i>Lycopersicon esculentum</i>) cultivar "Husky Gold"	Canadian Tire Sherbrooke, Québec
Fraisiers (<i>Fragaria x. ananassa</i>) cultivar Kent - bouture de stolons	Laboratoire de culture in vitro du MAPAQ, Sainte-Foy, Québec
Tubercules de pomme de terre (<i>Solanum tuberosum</i>) cultivar Kennebec (nucléaire)	Centre de recherche Les Buissons MAPAQ; Québec

Tableau 2 Microorganismes utilisés pour cette étude.

Microorganisme	Provenance
<i>Glomus intraradices</i>	Premier Tech Rivière-du-Loup, Québec
<i>Phytophthora fragariae</i> var. <i>fragariae</i> souches A3, A4, A6, A7 et A9	Laboratoire de biotechnologie MAPAQ, Sainte-Foy, Québec
<i>Phytophthora fragariae</i> var. <i>rubi</i> souche 390	Laboratoire du GRBA, Université de Sherbrooke, Sherbrooke, Québec
<i>Pythium ultimum</i> souche 447	Laboratoire de biotechnologie MAPAQ, Sainte-Foy, Québec
<i>Rhizoctonia solani</i> AG3	Centre de recherche Les Buissons MAPAQ, Québec

Tableau 3 Composts utilisés pour cette étude.

Compost	Provenance
Compost commercial à base de résidus chitineux (mature, âge inconnu et conservé à -10°C)	Canadian Tire Sherbrooke, Québec
Compost FTS(R) amendé de 30% ms/ms en carapaces de crevettes (mature, âgé de 6 mois et conservé à -10°C)	CRIQ Ste-Foy, Québec, Canada
Compost CT ₂ S(R) ₂ amendé de 30% ms/ms en carapaces de crevettes (mature, âgé de 6 mois et conservé à -10°C)	CRIQ Ste-Foy, Québec, Canada

2.3 Préparation d'infusion de compost

Une infusion de compost est faite à partir de 2 g sec de compost mis dans 25 ml d'eau distillée. Ce mélange est ensuite incubé pendant 15 heures à la température ambiante, avec agitation, à l'obscurité. L'infusion est par la suite centrifugée à 3900 rpm pendant 10 minutes. Le surnageant est alors stérilisé par deux filtrations à l'aide de filtres Millipore 0,45 μm puis 0,22 μm .

2.4 Croissance de champignons phytopathogènes en présence d'infusion de compost

Des composts de résidus chitineux ont été testés pour leur capacité à réduire la croissance de trois genres de champignons phytopathogènes soit: *Phytophthora*, *Pythium* et *Rhizoctonia* (voir section 2.2, tableau 2).

Les infusions de compost préparées (voir section 2.3) sont ajoutées à raison de 15% (v/v) à un milieu riche, le PDB. Le témoin sans infusion est fait en ajoutant 15% (v/v) d'eau stérile au milieu PDB stérile au lieu de l'infusion de compost. Le mélange infusion-PDB est ensuite distribué dans des pétris de façon aseptique.

Chaque pétri est inoculé avec une rondelle de 6 mm d'agar portant une culture du champignon à tester vieille de 2 à 4 semaines. Les rondelles étaient prélevées sur le contour externe de la culture fongique. Ces pétris ainsi inoculés étaient incubés à 30°C pendant 3 jours à l'obscurité. Pour chaque champignon étudié, 10 pétris étaient préparés et cette expérience a été répétée 5 à 10 fois.

Après l'incubation, le mycélium fongique est ramassé à l'aide de pince et il est séché à l'étuve à environ 60°C toute une nuit. Le mycélium sec est pesé et le poids sec du champignon ayant poussé en présence d'infusion de compost est comparé au poids sec du champignon ayant poussé sans infusion de compost. Une inhibition de croissance de champignon sera notée si le poids sec du champignon ayant poussé en présence de l'infusion de compost est significativement inférieur à celui du champignon ayant poussé en présence d'eau stérile. Les calculs statistiques sont effectués à l'aide du test de Student à $p < 0,05$.

2.5 Dosage de la NHF

2.5.1 Principe

La **NHF** signifie la **F**raction **H**ydrolysable par la **N**-acétylglucosaminidase. Il s'agit d'un test développé par Roy *et al* (1997) et qui permet d'estimer la quantité d'oligomères de chitine dans un échantillon de biomasse. La N-acétylglucosaminidase hydrolyse de façon spécifique les oligomères de chitine en libérant la N-acétylglucosamine. Cette dernière est dosée par une méthode colorimétrique.

2.5.2 Digestion enzymatique et dosage d'aminosucres

Un échantillon de compost est séché et broyé pendant 10 secondes dans un broyeur électrique de type Tekmar A-10. Pour chaque compost testé, 0,5 g de compost broyé et séché est distribué dans 6 tubes Falcon de 15 ml. Dans chacun des tubes, 3,6 ml de tampon acétate à 50

mM sont ajoutés et les tubes sont incubés pendant 4 heures à 4°C (avec agitation).

Dans trois des 6 tubes, 0,4 ml de solution GT (Roy *et al*, 1997) est ajouté, ces tubes serviront de témoins. Ils sont incubés avec agitation pendant une heure à 4°C. Dans les 3 autres tubes, 0,4 ml de solution enzymatique (N-acétylglucosaminidase) est ajouté, ce sont les tubes tests. Ils sont incubés à 50°C pendant une heure avec agitation.

A la fin de l'incubation, les tubes sont centrifugés pendant 5 minutes à 3900 rpm. Du surnageant obtenu, 1 ml est transféré dans un tube de verre et est utilisé pour le dosage de la N-acétylglucosamine selon la technique de Morgan-Elson (Reissig *et al*, 1955). Aux tubes de verre, 0,25 ml de tampon tétraborate à 0.8 M (pH 9.0) est ajouté. Les tubes sont chauffés à 100°C pendant 7 minutes. Ils sont ensuite refroidis sous un jet d'eau courante. Sept ml de réactif chromogénique (Roy *et al*, 1997) sont déposés dans les tubes et ils sont incubés pendant 20 minutes à 37°C. La densité optique est mesurée par spectrophotométrie à 585 nm et le résultat obtenu est comparé à une courbe standard représentant la quantité de N-acétylglucosamine selon la densité optique.

2.6 Dosage des PR protéines (glucanases et chitinases) chez les plantules de tomates ayant germé en présence d'infusion de composts

2.6.1 Extrait végétal

Des graines de tomate de cultivar Husky Gold (Tableau 1) sont utilisées pour produire un extrait végétal. Les graines de tomates sont stérilisées dans 10% d'eau de Javel (v/v) pendant 10 minutes et rincées deux fois avec de l'eau distillée stérile. Les graines sont alors déposées

dans des pétris contenant 0,6% d'agar auxquels étaient ajoutés 15% d'infusion de compost. Les graines sont alors incubées à la température de la pièce pendant 6 jours. Quatre traitements ont été effectués: avec l'infusion de compost commercial, avec l'infusion de compost FTS(R) amendé, avec l'infusion de compost CT₂S(R)₂ et un témoin sans infusion. Pour chaque traitement, 10 pétris contenant 10 graines chacun ont été évalués et l'expérience a été répétée 5 fois.

Les enzymes végétales sont extraites selon la procédure de Hirano *et al* (1988) modifiée par Li (1993). Les jeunes plantules issues des graines germées sur les pétris sont amassées et mises dans un mortier placé dans un bain de glace. Dix volumes d'un tampon de phosphate de potassium à 0,05 M (pH 6,8) sont ajoutés aux plantules. Les plantules sont broyées et homogénéisées avec de la silice stérile. Les débris cellulaires sont éliminés par centrifugation (5000 rpm, 20 min à 4°C). Le surnageant est utilisé immédiatement pour effectuer les tests enzymatiques ou alors est congelé à -20°C.

2.6.2 Dosage enzymatique des sucres réducteurs

Pour tester les β -1,3-glucanases, la laminarine (L-9634, Sigma) dissoute dans du tampon de phosphate de potassium à 0,05 M (pH 6,8) est utilisée comme substrat. La concentration de la solution stock de laminarine est de 2%.

Pour tester les chitinases, la chitine (Sigma C-7170) en suspension dans du tampon de phosphate de potassium à 0,05 M (pH 6,8) est utilisée comme substrat. La concentration de la solution stock de chitine est de 2%.

L'essai enzymatique est préparé en mélangeant 0,5 ml de surnageant enzymatique végétal et 0,5 ml de substrat dans un microtube. Le mélange réactionnel est incubé dans un bain à 37°C pendant 30 minutes. Le dosage des sucres réducteurs est fait selon la technique de Nelson-Somogyi (Spiro, 1966). Pour chaque échantillon à doser, deux tubes en verre 13x100 mm sont préparés et identifiés respectivement "Enzyme" et "Référence". Dans chaque tube, 0,5 ml du réactif cuivre alcalin est déposé. Un volume de 0,5 ml de mélange réactionnel est prélevé et est déposé dans un tube "E". Le réactif cuivre alcalin va arrêter la réaction enzymatique. Dans le tube "R", 0,25 ml de substrat et 0,25 ml de surnageant enzymatique sont ajoutés.

Les tubes sont chauffés 15 minutes à 100°C. Ils sont refroidis puis 0,5 ml de réactif arsénomolybdique est ajouté. On dilue le tout avec 4,5 ml d'eau. Les tubes sont centrifugés 10 minutes à 2000 rpm. La lecture des densités optiques au spectrophotomètre se fait à 520 nm.

2.6.3 Détermination de la concentration en protéines totales de l'extrait végétal

Comme l'activité enzymatique (glucanolytique et chitinolytique) est exprimée en $\mu\text{moles/min/mg}$ de protéines, la concentration en protéines totales de l'extrait végétal des plantules de tomates (voir section 2.6.1) a été déterminée par la méthode de Bradford (1976) en suivant les spécifications du fournisseur Bio-Rad (Bio-Rad protein assay; Bio-Rad Laboratories, Hercules, États-Unis).

2.7 Test du pouvoir pathogène de diverses maladies végétales en présence de composts de résidus chitineux

2.7.1 Test du pouvoir pathogène de *Pythium ultimum* sur le concombre

2.7.1.1 Inoculum

L'inoculum consistait en une rondelle de 6 mm d'agar PDA portant une culture de *Pythium ultimum* de 2 à 4 semaines (voir section 2.2), laquelle était ajoutée un mélange de 60 ml de substrat de base amendé de 25% de compost (v/v) et 6 g de flocons d'avoine broyés en poudre et tamisés (20 g/L de substrat de base). Le substrat de base était composé de sable, de terre et de vermiculite mélangés en proportion 2:2:1.

2.7.1.2 Essai en chambre de croissance

L'essai en serre a été fait selon les protocoles de Bouhot (1975 a; 1975 b; 1975 c) modifiés de la façon suivante. L'essai durait au total 13 jours. Trois composts matures ont été testés (Tableau 3). Nous avons fait 7 traitements: inoculés avec *P. ultimum* et non-inoculés et ce pour les trois composts à tester ainsi qu'un témoin négatif. Chaque traitement comportait six pots avec 10 graines de concombre par pot. Dans des pots de 10 cm de largeur, 250 ml de substrat amendé étaient déposés dans le fond et formaient une couche uniforme. Le substrat amendé était ensuite saturé d'eau. Les graines de concombre ont alors été déposées à la surface puis ont été couvertes d'un volume additionnel de 50 ml de substrat amendé. Les sols étaient de

nouveau saturés d'eau et des capuchons de plastique transparent étaient déposés sur les pots pour garder l'humidité. Les pots ont été placés pendant 6 jours dans une chambre de croissance à une température de 25°C, avec une luminosité de 4000 à 8000 lux, une photopériode de 16 heures et 60 à 70% d'humidité relative.

Le sixième jour, les pots ont été arrosés à saturation et les plants de concombre ont été inoculés en déposant l'inoculum (voir section 2.7.1.1) en une couche uniforme à la surface des pots. Le pourcentage d'humidité a été ajusté à 70-80% de la capacité de rétention du substrat. Les pots ont été placés dans la chambre de croissance à une température de 15°C, à l'obscurité pendant 24 heures. Après 24 heures, les conditions de croissance ont été modifiées. La température était élevée à 21-22°C le jour et 18-19°C la nuit. La luminosité a été montée à 9000-12000 lux. Les pots y sont restés 6 jours supplémentaires. Les symptômes de fonte de semis ont été notés le dernier jour. Ces symptômes se traduisent par une constriction du collet de la plantule, dessèchement, affaissement et mort de la plantule. Le pourcentage de mortalité pour chacun des traitements a été établi. Les tests statistiques ont été effectués à l'aide du test de Khi-carré à $p < 0,05$.

2.7.2 Test du pouvoir pathogène de *Phytophthora fragariae* var. *fragariae* sur le fraisier

2.7.2.1 Inoculum

L'inoculum était formé d'un mélange de 5 souches de *Phytophthora fragariae* var. *fragariae* soit: A3, A4, A6, A7 et A9. Chaque pot inoculé a reçu cinq rondelles de PDA de 6mm. Chaque rondelle portait une des souches. Les rondelles provenaient de cultures âgées entre deux et 4 semaines, ayant crues à 25°C, à l'obscurité (voir section 2.2).

2.7.2.2 Essai en chambre de croissance

L'essai en serre a été fait selon le protocole de Duncan (1976) modifié de la façon suivante. L'essai durait 8 semaines. Trois composts ont été testés (Tableau 3). Nous avons fait 9 traitements: inoculés avec *P. fragariae* var. *fragariae* au moment de la plantation, inoculés 2 semaines après la plantation et non-inoculés et ce pour les trois composts à tester. Chaque traitement comprenait 6 pots contenant un plant de fraisier. Dans des pots de 10 cm de largeur, 250 ml de substrat de base (sable, terre et vermiculite mélangés en proportion 2:2:1) amendé de 25% (v/v) de compost ont été déposés. Le plant de fraise a été planté et le sol a été saturé d'eau. A ce moment, on ajoutait l'inoculum de *P. fragariae* var. *fragariae* aux pots formant les traitements inoculés à la plantation. Les plants de tous les traitements étaient alors mis en chambre de croissance pendant deux semaines sous les conditions suivantes: une température ambiante de 20-25°C, une luminosité de 4000 à 8000 lux avec une photopériode de 15 heures, une humidité relative de 80% et un arrosage à saturation.

Après deux semaines, l'inoculum était ajouté aux plants formant les traitements inoculés après la plantation. Ces pots ainsi que ceux inoculés auparavant et les témoins non-inoculés étaient remis en chambre de croissance et les conditions ont été modifiées comme suit: une température de 15-20°C (pour favoriser l'infection), une luminosité de 8000 à 12000 lux avec 15 heures de jour, une humidité relative de 80% et un arrosage à 80% de la capacité de rétention du sol. Ils y sont demeurés 6 autres semaines. A la fin de ces 6 semaines, les plants de fraise ont été dépotés et les racines étaient minutieusement lavées. Les racines étaient alors coupées en morceaux, séchées et minutieusement brassées de façon à créer un ensemble homogène. Pour chaque pot, deux échantillons d'une trentaine de morceaux de racine chacun ont été prélevés et les racines ont été placées dans des cassettes pour la coloration.

2.7.2.3 Coloration des racines

La coloration des racines a été faite par la technique de coloration à l'acide lactique fuchsine de Ouimet *et al.* (1995) et avait pour but de visualiser la présence d'oospores, la forme de reproduction sexuée de *Phytophthora*. Les cassettes de coloration contenant les racines étaient placées dans un bécher contenant suffisamment de KOH à 10% pour couvrir les racines. Elles étaient mises à l'autoclave pendant 3 minutes à 121°C pour décolorer les tissus. Les cassettes étaient ensuite rincées 3 à 4 fois sous l'eau du robinet. Elles ont été alors immergées dans une solution alcaline de H₂O₂ pendant 10 à 60 minutes en couvrant le bécher de papier d'aluminium pour le protéger de la lumière. Les cassettes contenant les racines étaient rincées de nouveau sous l'eau du robinet 3 à 4 fois pour éliminer le H₂O₂. Elles étaient par la suite immergées dans une solution de HCl à 1% pendant 3 minutes avec agitation. Elles ont été égouttées, déposées dans la solution colorante d'acide lactique-fuchsine à 0.01% et mises à l'autoclave 5 minutes à 121°C. Le surplus de colorant était éliminé et les racines étaient finalement transférées dans un pétri et recouvertes de glycérol.

2.7.2.4 Technique de comptage des oogones de *Phytophthora*

Le dénombrement des oogones de *Phytophthora* dans les racines a été fait à l'aide d'un microscope à inversion selon une technique développée par Bolduc¹. Les pétris contenant les racines de fraisier colorées présentaient un fond quadrillé à damier. Chaque division de ce quadrillé mesurait 3 mm². On notait la présence ou l'absence d'oogones pour chacune des divisions. Les résultats ont été cumulés en pourcentage de divisions présentant des oogones de

¹ Communication écrite personnelle

Phytophthora dans les racines et ce pourcentage représente l'indice d'infection de *Phytophthora fragariae* var. *fragariae*. Les analyses statistiques ont été effectuées à l'aide du test de Student à $p < 0,05$.

2.7.3 Test du pouvoir pathogène de *Rhizoctonia solani* AG3 sur la pomme de terre

2.7.3.1 Inoculum

Les tubercules de pomme de terre ont été inoculés avec de la poudre de sclérotés de *Rhizoctonia solani* AG3 selon le protocole de Otrysko et Banville (1992). L'inoculum consistait d'un mélange homogène de 1 g de poudre de sclérotés, 40 ml de vermiculite fine et de 7 ml d'eau.

2.7.3.2 Essai en serre

L'essai en serre a été fait selon le protocole modifié de Otrysko et Banville (1992). Le substrat de base était composé de sable et de vermiculite mélangés ensemble en proportion 2:1. Les trois composts testés ont été ajoutés au substrat de base à raison de 25% (v/v). Dans des pots de 20 cm de diamètre, du substrat de base amendé de compost a été placé de façon à remplir le pot d'une hauteur de 2,5 cm. Un tubercule était ensuite placé au fond du pot et pour les traitements le nécessitant, le tubercule était inoculé en déposant par-dessus le mélange de poudre de sclérote. Du substrat amendé était ajouté au-dessus du tubercule pour le couvrir d'une hauteur d'environ 10 cm. Les pots étaient alors mis en chambre de croissance de 2 à 3

semaines ou jusqu'à ce que les germes émergent du sol d'une hauteur de 5 à 10 cm. Les conditions environnementales dans la chambre de croissance durant ces deux à trois semaines étaient les suivantes: une température ambiante d'environ 19°C, une luminosité de 8000 lux avec une photopériode de 15 heures, une humidité relative de 80% et en arrosant au besoin.

Lorsque les germes ont émergé, les plants ont été déterrés et lavés soigneusement. La surface et la sévérité des lésions ont été notées sur les tiges souterraines principales. Deux indices de maladies ont été calculées, un se basant sur la surface des lésions et un autre basé sur la sévérité de ces lésions.

Les lésions apparaissant sur les tiges souterraines ont été examinées et une cote de 1 à 5 (Otrysko *et al*, 1988), déterminée selon la surface occupée par les lésions sur la tige souterraine principale, a été associée à chaque tige. Les cotes se décrivent de la façon suivante:

- 1 aucune lésion
- 2 lésions qui s'étendent sur au moins 5% de la tige
- 3 lésions qui s'étendent entre 5% et 25% de la tige
- 4 lésions qui s'étendent entre 25% et 50% de la tige
- 5 lésions qui s'étendent sur plus de 50% de la tige ou tiges coupées

A partir de ces cotes, l'indice d'infection est calculé comme suit:

$$\text{Indice d'infection} = \frac{\sum (\text{cote } i^2 \times \text{nombre de tiges par cote } i)}{\text{nombre de tiges principales par traitement}}$$

La sévérité des lésions était également estimée pour chaque plant et une cote de 0 à 5 leur a été associée. Les cotes se décrivent de la façon suivante:

- 0 tissu sain
- 1 petites lésions dorées, tissu ferme
- 2 longues lésions dorées, tissu ferme
- 3 petites lésions brunes, tissu partiellement macéré
- 4 grandes lésions brunes, tissu macéré
- 5 grandes lésions brunes, tissu fortement macéré ou tiges coupées.

L'indice de sévérité des lésions a été calculé en effectuant la moyenne des cotes obtenues pour l'ensemble des plants d'un traitement. La cote obtenue pour un plant équivalait aux symptômes moyens observés chez la plante. Les résultats ont été évalués par le test de Student à $p < 0,05$.

2.8 Test de la mycorhization de *Glomus intraradices* sur le fraisier en présence de composts de résidus chitineux

2.8.1 Inoculum

L'inoculation de *Glomus intraradices* a été faite en suivant le protocole fourni par Peter Moutoglis de Premier Tech (Rivière-du-Loup, Canada) ². Une suspension homogène de spores de *Glomus intraradices* de 50 spores/ml d'eau distillée a été produite et 2 ml de cette suspension ont été versés sur les racines des fraisiers à tester de façon à avoir approximativement 100 spores par pot.

² Communication écrite personnelle

2.8.2 Essai en chambre de croissance et coloration des racines

L'essai en serre a été fait selon le protocole modifié de Duncan (1976). Les traitements inoculés avec *Glomus intradices* au moment de la plantation, inoculés 2 semaines après la plantation et non-inoculés ont été faits pour les trois composts testés (Tableau 3). Chaque traitement comprenait 6 pots contenant un plant de fraisier. Le plant de fraise a été planté dans un pot de 10 cm de largeur où 250 ml de substrat de base (sable, terre et vermiculite en proportion 2:2:1) amendé de 25% (v/v) de compost était déposé. On versait alors l'inoculum sur les racines des plants constituant le traitement inoculé au moment de la plantation. Tous les plants étaient ensuite mis en chambre de croissance pendant 2 semaines sous les conditions suivantes: une température ambiante de 18 à 20°C, une luminosité de 4000 à 8000 lux avec une photopériode de 15 heures, une humidité relative de 80% et un arrosage à saturation.

Après 2 semaines, la suspension de spores était ajoutée aux plants constituant le traitement inoculé après la plantation. Tous les plants étaient remis en chambre de croissance et ils y sont restés pendant 6 semaines. Les plants ont ensuite été retirés des chambres de croissance et ont été lavés. Les racines ont été récoltées et colorées à l'acide lactique-fuchsine (voir section 2.7.2.3).

2.8.3 Technique de comptage des racines de fraisiers mycorhizées

Le dénombrement des mycorhizes dans les racines de fraisiers a été fait à l'aide d'un microscope à inversion. Les résultats ont été estimés par la méthode de comptage par intersections. Les racines étaient déposées dans des pétris dont le fond était divisé par des lignes parallèles distantes de 1,5 cm. Pour chaque racine croisant une ligne, on vérifiait si cette

racine était mycorhizée dans le champ visuel observé. Une observation d'au moins 100 intersections a été faite. Le pourcentage d'intersections où des racines mycorhizées étaient présentes a été déterminé et représente l'indice de mycorhization. Les analyses statistiques ont été effectuées à l'aide du test de Student à $p < 0,05$.

CHAPITRE 3

RÉSULTATS

3.1 Croissance de champignons phytopathogènes en présence d'infusion de compost

Le but de cette expérience était d'observer les effets sur la croissance de champignons phytopathogènes des infusions de compost FTS(R) et CT₂S(R)₂ amendés comparativement à une infusion du compost commercial à base de résidus chitineux. Tous les composts utilisés pour faire ces infusions étaient matures (Tableau 2). Les tableaux 4, 5 et 6 présentent les résultats obtenus pour 3 genres de champignons phytopathogènes soit *Phytophthora*, *Pythium* et *Rhizoctonia*.

La présence d'infusions de compost dans le milieu de croissance ne diminuait aucunement le poids moyen du champignon *Phytophthora*. Au contraire, les trois composts augmentaient significativement le poids du mycélium fongique. Aucune différence significative n'a été observé lorsque les différents composts étaient comparés entre eux (tableau 4).

Les infusions de compost commercial à base de résidus chitineux et de compost CT₂S(R)₂ amendé augmentaient significativement le poids moyen du champignon *Pythium* alors que l'infusion de compost FTS(R) amendé le diminuait de façon significative. Ce compost donnait une inhibition de croissance de *Pythium* de 9,1 % (Tableau 5).

Tableau 4 Taux de croissance de *Phytophthora fragariae* var. *rubi* souche 390 dans un milieu PDB contenant des infusions de compost mature.

Traitement	Poids moyen (g)	Écart type
Témoin (sans infusion)	0,0603 ^{a 1}	0,0077
Infusion de compost commercial	0,0748 ^b	0,0126
Infusion de compost FTS(R) amendé	0,0709 ^b	0,0100
Infusion de compost CT ₂ S(R) ₂ amendé	0,0810 ^b	0,0099

¹ Les nombres qui sont accompagnés d'une même lettre ne diffèrent pas significativement ($p < 0,05$), test de Student.

Tableau 5 Taux de croissance de *Pythium ultimum* souche 447 dans un milieu PDB contenant des infusions de compost mature.

Traitement	Poids moyen (g)	Écart type
Témoin (sans infusion)	0,0681 ^{b 1}	0,0066
Infusion de compost commercial	0,1022 ^d	0,0115
Infusion de compost FTS(R) amendé	0,0619 ^a	0,0074
Infusion de compost CT ₂ S(R) ₂ amendé	0,0759 ^c	0,0065

¹ Les nombres qui sont accompagnés d'une même lettre ne diffèrent pas significativement ($p < 0,05$), test de Student.

Tableau 6 Taux de croissance de *Rhizoctonia solani* AG3
dans un milieu PDB contenant des infusions de compost mature.

Traitement	Poids moyen (g)	Écart type
Témoin (sans infusion)	0,0440 ^{a 1}	0,0149
Infusion de compost commercial	0,0399 ^a	0,0092
Infusion de compost FTS(R) amendé	0,0568 ^b	0,0145
Infusion de compost CT ₂ S(R) ₂ amendé	0,0499 ^{a b}	0,0177

¹ Les nombres qui sont accompagnés d'une même lettre ne diffèrent pas significativement ($p < 0,05$), test de Student.

Une infusion de compost FTS(R) amendé amenait une augmentation significative du poids moyen du mycélium de *Rhizoctonia*. Les deux autres composts n'avaient pas d'effet significatif sur la croissance de *Rhizoctonia* (Tableau 6).

3.2 NHF et inhibition de la croissance des champignons durant le compostage

Il était important de pouvoir détecter l'apparition d'oligomères de chitosane durant le compostage et de déterminer s'il existe une corrélation entre la concentration d'oligomères et le caractère fongistatique ou fongicide des composts. En faisant le suivi de la NHF et des propriétés fongistatiques des infusions préparés avec des échantillons prélevés durant le compostage, il a été remarqué que l'inhibition de la croissance de *Phytophthora* était maximale durant les deux phases thermophiles. La première phase thermophile apparaissant durant les premiers jours du compostage et la deuxième ayant eu lieu suite aux amendements en carapaces de crevettes.

La figure 4 présente un graphique qui compare la capacité d'une infusion d'un échantillon de compost à inhiber la croissance de *Phytophthora fragariae* var. *rubi* souche 390 avec la NHF de cet échantillon, et ce, à différents stades de maturation de composts différant au niveau des sciures de bois les composant.

Les courbes de l'inhibition de croissance et de la NHF se suivaient sensiblement. Au début du compostage, les deux paramètres étaient très faibles. Dès que la température du compost augmentait, c'est à dire lorsque la phase thermophile débutait, on assistait à l'apparition de l'effet inhibiteur et de la NHF. Les courbes ont augmenté puis elles sont redescendues après la phase thermophile jusqu'au moment de l'amendement où est apparue la deuxième phase

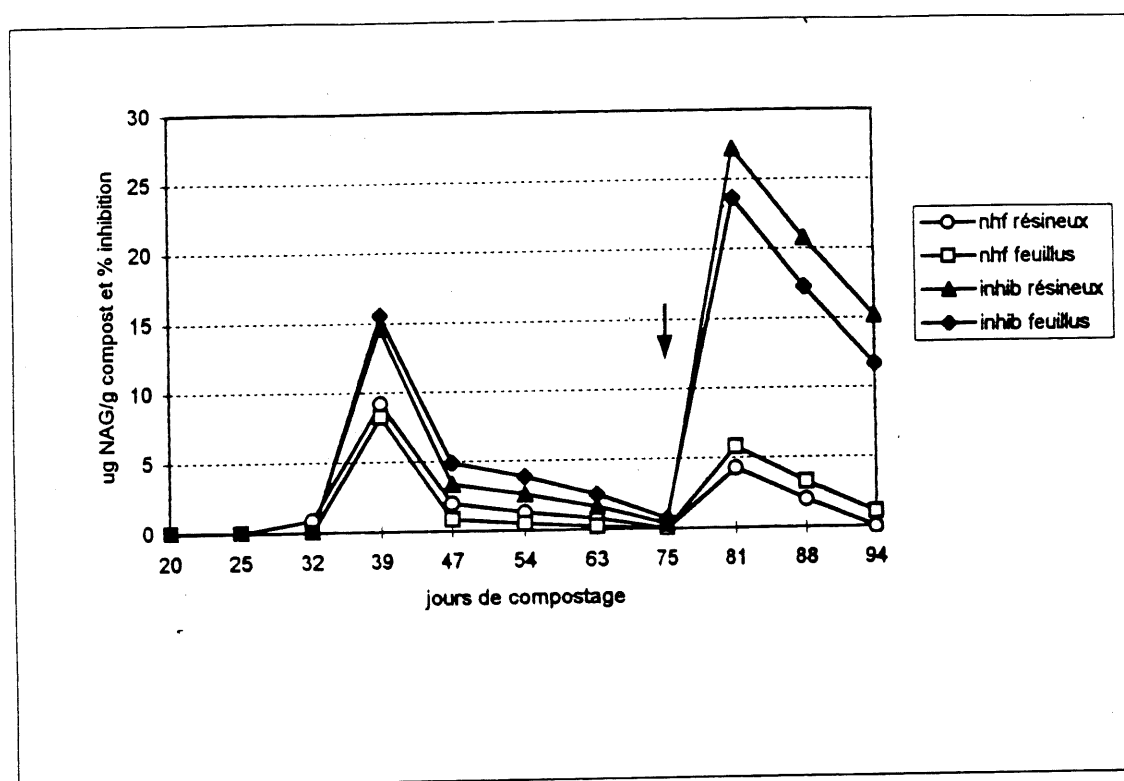


Figure 4 Comparaison entre la NHF de compost $CT_2S(R)_2$ et $CT_2S(F)_2$ et le pourcentage d'inhibition de croissance de *Phytophthora fragariae* d'infusion provenant de ces composts. La flèche indique le moment où il y a eu un amendement de 26% en carapaces de crevettes.

thermophile. A ce moment, les courbes de la NHF et de l'effet inhibiteur ont atteint à nouveau un pic. La courbe de l'inhibition était à son point le plus élevée à ce stade de compostage malgré le fait qu'il ne semblait pas y avoir plus d'oligomères de chitosane présent que lors de la première phase thermophile. A la fin du compostage, le taux d'inhibition était d'environ 13% alors que la NHF était pratiquement nulle. Après 6 mois, les infusions de composts n'inhibaient plus la croissance de *Phytophthora fragariae* var. *rubi* (Fig. 4). On voit peu de différence entre les courbes des composts à base de sciures de bois résineux et les composts de sciures de feuillus (Fig. 4).

3.3 Dosage des PR protéines (glucanases et chitinases) chez les plantules de tomates poussées en présence d'infusion de composts

Afin de vérifier si les infusions de compost mature induisaient les mécanismes de défense des plantes, les extraits végétaux, de plantules de tomates poussées en présence d'infusion de compost, ont été dosés pour leurs activités glucanolytique et chitinolytique. Les figures 5 et 6 montrent les résultats obtenus pour les 5 traitements effectués soit: témoin sans infusion, compost commercial à base de résidus chitineux, FTS(R) amendé, CT₂S(R)₂ amendé et chitosane. Le chitosane a été utilisé comme témoin positif à l'apparition de PR protéines chez la tomate.

La quantité de glucanases dans les plantules de tomate augmentait significativement lorsque celles-ci étaient en contact avec les infusions de composts FTS(R) amendé et CT₂S(R)₂ amendé pendant 6 jours (15% d'infusion). augmentait significativement la quantité de glucanases . Il en était de même pour le chitosane au contraire du compost commercial. Le chitosane augmentait l'activité glucanolytique de près de 5 fois. Les composts FTS(R) amendé et CT₂S(R)₂ amendé augmentaient l'activité glucanolytique d'un facteur de 2 à 2,5 (Fig. 5).

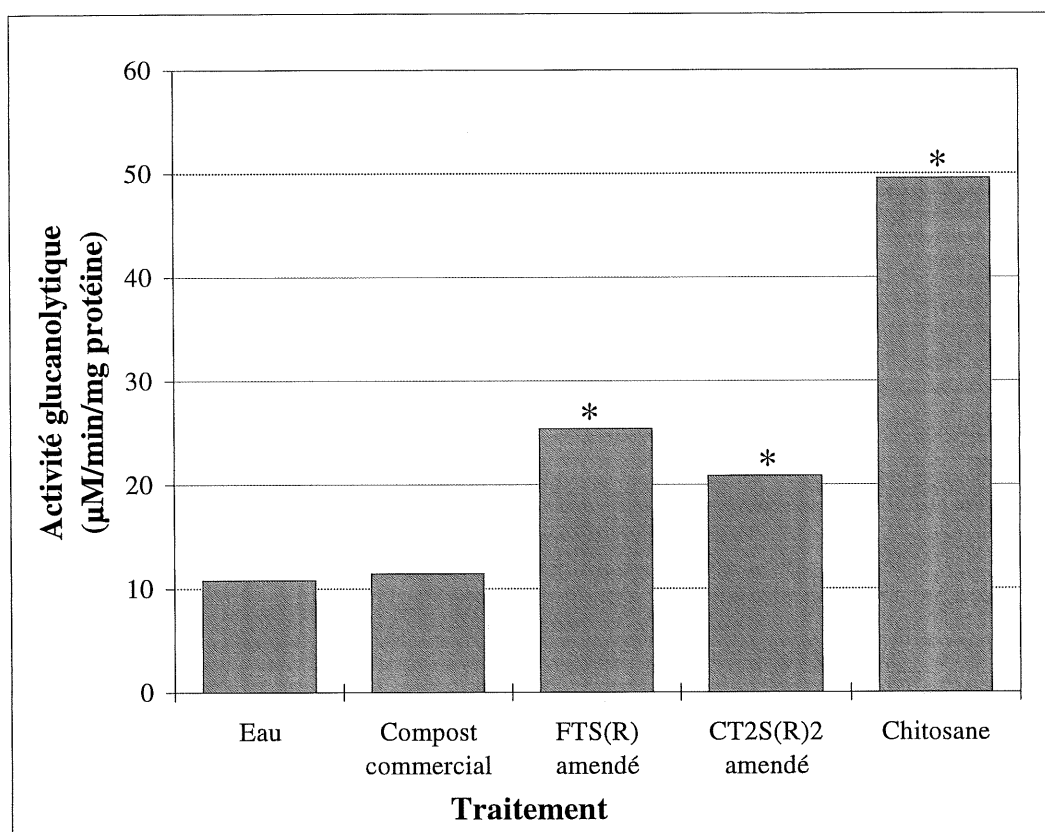


Figure 5 Activité glucanolytique de plantules de tomates ayant germées en présence ou en absence de 15% d'infusion de compost. * Les colonnes qui sont accompagnés d'un astérisque diffèrent significativement du traitement eau ($p < 0,05$), test de Student.

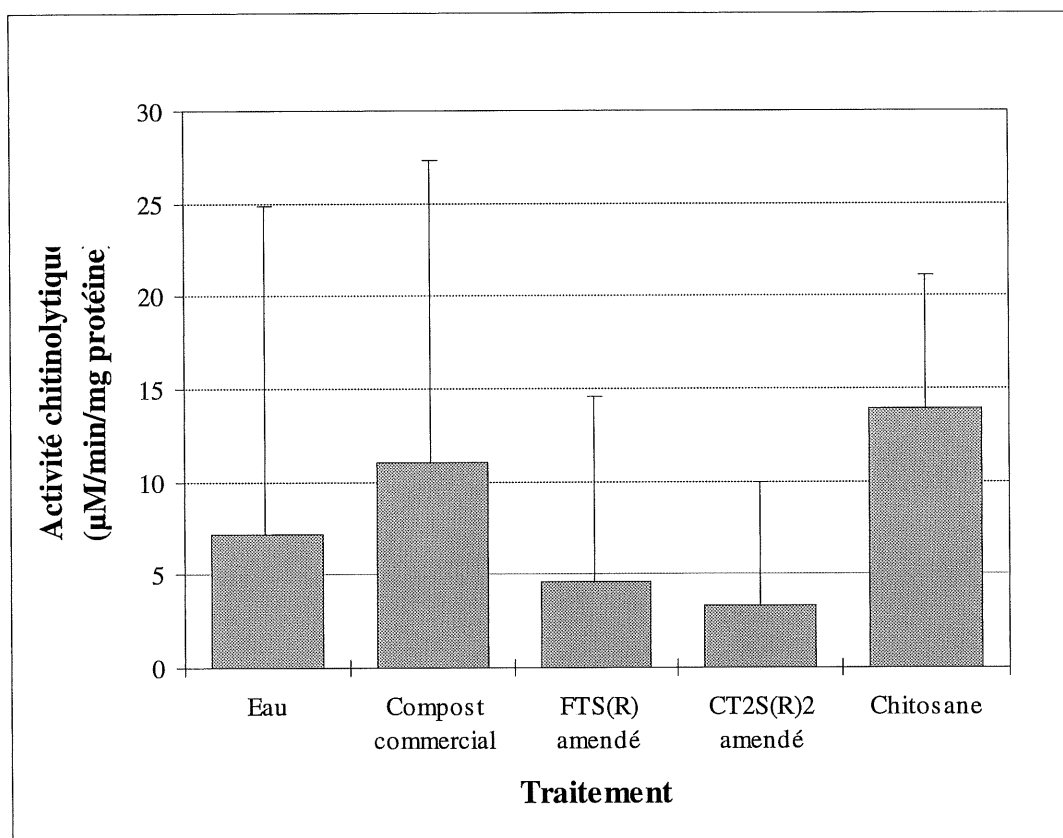


Figure 6 Activité chitinolytique de plantules de tomates ayant germées en présence ou en absence d'infusion de compost

Le graphique de l'activité chitinolytique est présenté à la figure 6. L'expérience n'a pas permis de démontrer une augmentation significative de l'activité chitinolytique mais les résultats obtenus avaient des écarts-type élevés. Seuls les traitements CT₂S(R)₂ amendé et chitosane ont montré une différence significative entre eux.

3.4 Pouvoir pathogène de divers agents pathogènes en présence de composts de résidus chitineux

3.4.1 Pouvoir pathogène de *Pythium ultimum* sur le concombre

Les effets des composts à base de résidus chitineux ont été observés sur le pouvoir pathogène de *Pythium ultimum* chez le concombre. Pour ce faire, des plantules de concombre ont été mis en présence des différents composts et de l'agent pathogène *Pythium ultimum*. Le pourcentage de mortalité des plantules de concombre a été calculé pour chacun des traitements.

Les plants de concombre non-inoculés ont montré des pourcentages de mortalité très faibles variant de 0 à 1,2% dépendant des traitements et des cultivars utilisés. Il y avait une différence significative entre les résultats obtenus pour les plants de concombre inoculés en présence de compost commercial à base de résidus chitineux et ceux des autres composts. Le compost CT₂S(R)₂ amendé agissait en réduisant le pourcentage de mortalité de près de 16 % pour le cultivar de concombre "Carmen" et de près de 34 % pour le cultivar "Sweet slice". Le compost FTS(R) amendé diminuait le pourcentage de mortalité d'environ 6 % pour le cultivar de concombre "Carmen" et de 13 % pour le cultivar "Sweet slice" (Tableau 7).

Tableau 7 Mortalité des plantules de concombre ayant crû en présence de différents composts matures inoculés ou non par *Pythium ultimum* souche 447.

	Mortalité (%)			
	cultivar "Sweet slice"		cultivar "Carmen"	
	Non Infecté	Infecté par <i>P. ultimum</i>	Non Infecté	Infecté par <i>P. ultimum</i>
Compost Commercial	1,20 ^{a 1}	96,88 ^{c 1}	0 ^{a 1}	97,01 ^{a 1}
Compost FTS(R) amendé	0 ^a	83,61 ^b	0,30 ^a	90,48 ^b
Compost T ₂ S(R) ₂ amendé	0,05 ^a	62,86 ^a	0 ^a	81,25 ^b

¹ Les nombres d'une même colonne qui sont accompagnés d'une même lettre ne diffèrent pas significativement ($p < 0,05$), test χ^2 .

en présence des composts FTS(R) amendé et CT₂S(R)₂ amendé semblaient avoir un indice de mycorhization plus faible que ceux en présence du compost commercial. Cependant, ils ne sont pas significativement différents des traitements faits en présence du compost commercial. Lorsque l'on compare les résultats obtenus pour l'ensemble de tous les traitements, seul deux traitements sont significativement différents: le traitement inoculé à la plantation et celui inoculé après la plantation, les deux en présence du compost FTS(R) amendé.

3.4.2 Pouvoir pathogène de *Phytophthora* sur le fraisier

Les effets des composts à base de résidus chitineux ont été testé sur le système *Phytophthora* et fraisier. Les plants ont été mis en présence des divers composts utilisés dans cette étude. Certains pots ont été immédiatement inoculés avec *Phytophthora fragariae* var. *fragariae* alors que d'autres ont été inoculés deux semaines plus tard.

Pour les fraisiers ayant poussé en présence du compost commercial à base de résidus chitineux, l'indice d'infection était significativement plus élevé pour les traitements inoculés à la plantation (6,34%) que pour les autres traitements. Le traitement non-inoculé donnait un indice d'infection de 1,51% et le traitement inoculé deux semaines après la plantation donnait un résultat de 2,73% (Fig. 7).

Dans le cas des fraisiers ayant poussé en présence du compost FTS(R) amendé, l'indice d'infection pour le traitement inoculé était significativement plus élevé que pour le traitement non-inoculé. Même si le traitement inoculé deux semaines après la plantation avait un indice d'infection plus élevé que le traitement inoculé à la plantation, il n'était pas significativement différent de ce dernier (Fig. 7).

Pour les traitements faits en présence du compost CT₂S(R)₂ amendé, le traitement non-inoculé donnait un indice d'infection d'environ 12%. Cette valeur était plutôt haute lorsqu'elle est comparée aux deux autres traitements non-inoculés. Il n'y avait pas de différence significative entre le traitement non-inoculé et les traitements inoculés à la plantation et après la plantation. Le traitement inoculé à la plantation en présence de compost CT₂S(R)₂ amendé donnait un indice d'infection semblable au même traitement fait en présence du compost FTS(R) amendé. Pour le traitement où on a inoculé les plants une semaine après la plantation, on obtenait un indice d'infection ressemblant au traitement fait en présence de compost commercial (Fig. 7). De façon générale, les composts CT₂S(R)₂ amendé et FTS(R) amendé semblaient favoriser l'infection des racines de fraisiers par *Phytophthora* comparativement au compost commercial.

3.4.3 Pouvoir pathogène de *Rhizoctonia solani* f. sp. AG3 sur la pomme de terre

L'effet des trois composts (compost commercial, FTS(R) amendé et CT₂S(R)₂ amendé) sur l'infection de la pomme de terre par *Rhizoctonia solani* AG3 est présenté au tableau 8.

Comme espéré, les traitements inoculés par *R. solani* donnaient des indices d'infection plus élevés que pour les traitements non-inoculés. Mais, les études statistiques indiquaient que cet indice ne différait pas significativement entre les traitements non-inoculés et inoculés et ce pour les trois composts (Tableau 8).

Cependant, visuellement une différence importante au niveau de la sévérité des symptômes (forme et coloration des tissus) a été observée (Tableau 9). En effet, dans les traitements où nos deux composts de carapaces de crevettes matures, FTS(R) amendé et CT₂S(R)₂ amendé, étaient

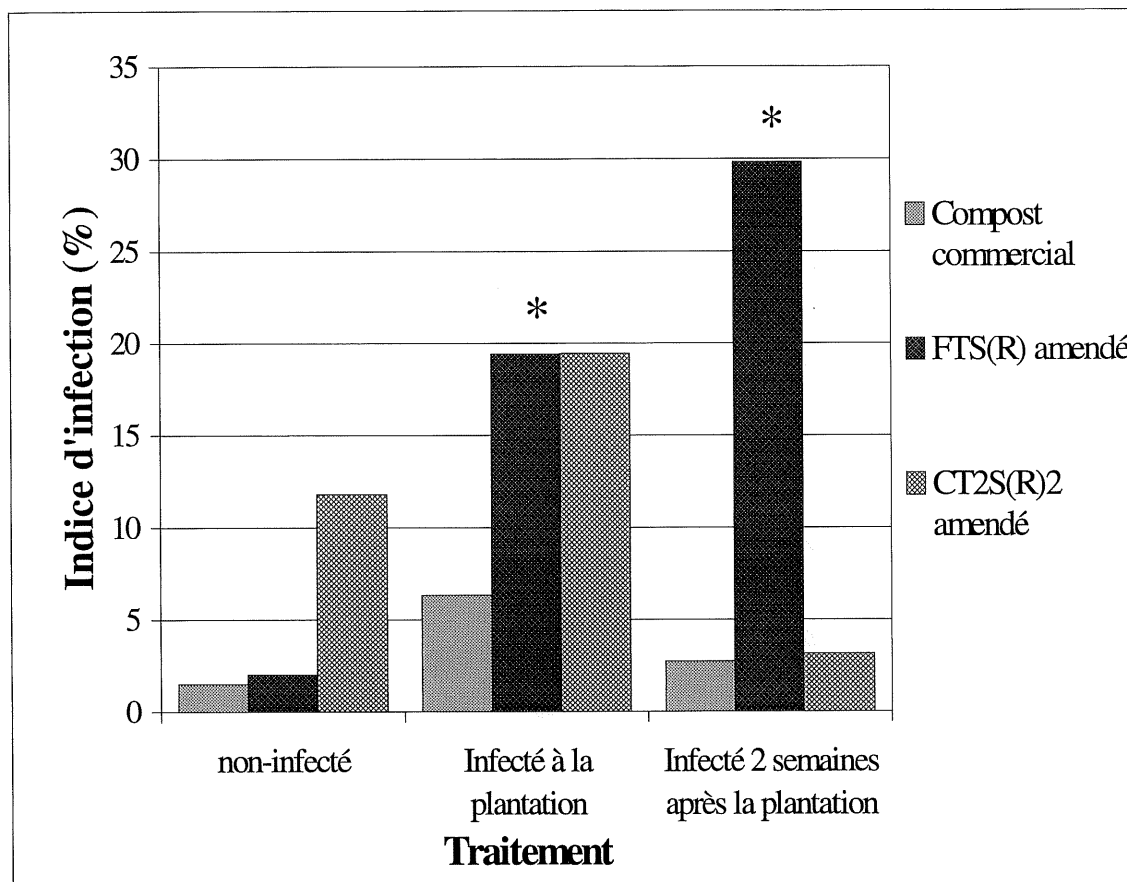


Figure 7 Indice d'infection de *Phytophthora fragariae* var. *fragariae* sur le fraisier cultivé en présence de composts matures à base de résidus chitineux.

* Les colonnes qui sont accompagnés d'un astérisque diffèrent significativement du traitement non-inoculé ($p < 0,05$), test de Student.

forme de taches plus ou moins grandes, de couleur foncée au niveau des racines et des tiges souterraines. Ces dernières étaient présentes dans les traitements avec le compost commercial. Les lésions retrouvées sur les plants en présence de nos deux composts étaient de forme allongées, semblables à des lignes, étaient plus pâles et aucune ne présentait des tissus macérés (Tableau 9). Des photographies de ces lésions sont présentées aux figures 8 à 11.

Pour tenir compte de la sévérité des symptômes, un indice de sévérité de la rhizoctonie a été établi. Les traitements non-inoculés ont montré des indices de sévérité semblables, ceux-ci oscillant entre 0,35 et 0,58. Pour les traitements inoculés par *R. solani*, le compost commercial est celui ayant obtenu l'indice de sévérité le plus élevé, soit 4,81. Les plants qui ont poussé en présence des composts FTS(R) amendé et CT₂S(R)₂ amendé ont obtenu des indices de 0,17 et 1,35. L'indice de sévérité des plants inoculés en contact avec les composts de résidus chitineux est donc beaucoup plus faible que celui des plants inoculés en contact avec le compost commercial, notre compost témoin. De plus, il n'y avait pas de différence significative entre les résultats obtenus pour les traitements inoculés en présence des composts FTS(R) amendé et CT₂S(R)₂ amendé et les traitements non-inoculés. Ces résultats montrent que les composts FTS(R) amendé et CT₂S(R)₂ amendé ont protégé les tiges souterraines de pomme de terre contre la rhizoctonie (Tableau 10).

3.5 Mycorhization de *Glomus intraradices* sur le fraisier

Les résultats reflétant l'effet des composts à base de résidus chitineux sur la mycorhization du fraisier par *Glomus intraradices* sont présentés à la figure 8.

On remarque que les traitements non-inoculés avaient des taux de mycorhization semblables variant entre 27 et 34%. A première vue, les traitements inoculés (avec et après la plantation)

en présence des composts FTS(R) amendé et CT₂S(R)₂ amendé semblaient avoir un indice de mycorhization plus faible que ceux en présence du compost commercial. Cependant, ces traitements ne sont pas significativement différents des traitements faits en présence du compost commercial. Lorsque l'on compare les résultats obtenus pour l'ensemble de tous les traitements, seul deux traitements sont significativement différents: le traitement inoculé avec la plantation et le traitement inoculé après la plantation, les deux en présence du compost FTS(R) amendé.

Tableau 8 Indice d'infection de *R. solani* sur les tiges souterraines de pommes de terre cultivées en présence de différents composts matures.

Indice d'infection (écart-type)		
	Non-inoculé	Inoculé
Compost commercial	1.67 (± 1.37) ^{a 1}	6.74 (± 3.97) ^a
Compost FTS(R) amendé	1.57 (± 0.86) ^a	3.73 (± 3.16) ^a
Compost CT ₂ S(R) ₂ amendé	3.45 (± 2.93) ^a	4.18 (± 2.38) ^a

¹ Les nombres qui sont accompagnés d'une même lettre ne diffèrent pas significativement (p 0,05), test de Student.

Tableau 9 Aspect visuel général des lésions causées par *R. solani* sur les plants de pomme de terre cultivées en présence de différents composts matures.

Symptômes observés		
	Non Inoculé	Inoculé
Compost commercial	petites lésions dorées à brunes de forme arrondie	taches nécrosées brunes et parfois tissus liquéfiés
Compost FTS(R) amendé	lésions beige à dorées de forme allongée	lésions dorées de forme allongée
Compost CT ₂ S(R) ₂ amendé	lésions beige à dorées de forme allongée	lésions beige à dorées de forme allongée



Figure 8 Tiges de pomme de terre ayant poussé dans un terreau contenant du compost commercial à base de résidus chitineux.



Figure 9 Lésions causées par *Rhizoctonia solani* sur les tiges de pomme de terre de plants ayant poussé dans un terreau contenant du compost commercial à base de résidus chitineux. Les flèches indiquent les lésions.



Figure 10 Lésions causées par *Rhizoctonia solani* sur les tiges de pomme de terre de plants ayant poussé dans un terreau contenant du compost FTS(R) amendé. les flèches indiquent les lésions.



Figure 11 Lésions causées par *Rhizoctonia solani* sur les tiges de pomme de terre de plants ayant poussé dans un terreau contenant du compost CT₂S(R)₂ amendé. Les flèches indiquent les lésions.

Tableau 10 Indices de sévérité de la rhizoctonie observée sur les tiges souterraines de pomme de terre poussées en présence de différents composts matures.

Indice de sévérité (écart-type)		
	Non-inoculé	Inoculé
Compost commercial	0.40 (± 0.92) ^{a 1}	4.81 (± 3.38) ^b
Compost FTS(R) amendé	0.35 (± 0.85) ^a	0.17 (± 0.26) ^a
Compost CT ₂ S(R) ₂ amendé	0.58 (± 1.25) ^a	1.35 (± 1.14) ^a

¹ Les nombres qui sont accompagnés d'une même lettre ne diffèrent pas significativement ($p < 0,05$), test de Student.

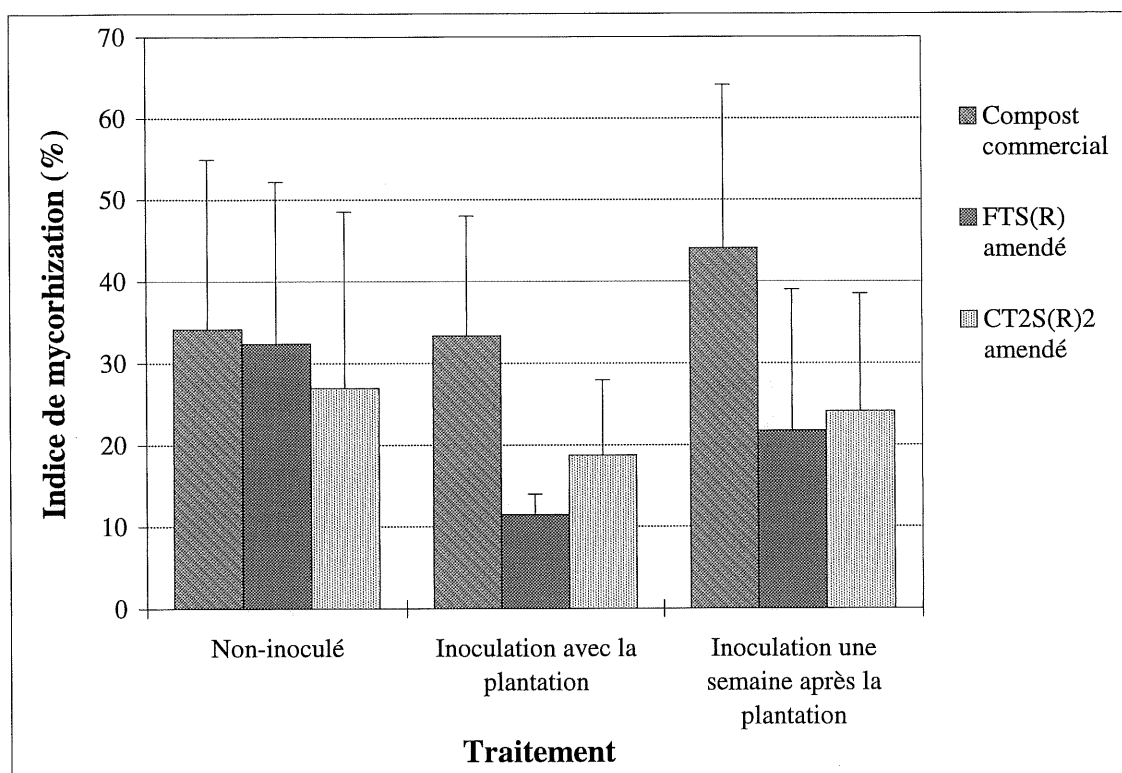


Figure 12 Indice de mycorrhization *Glomus intradices* sur le fraisier poussé en présence de composts à base de résidus chitineux matures.

CHAPITRE 4

DISCUSSION

Le but de cette étude était d'étudier les propriétés fongistatiques et phytoprotectrices des composts de résidus chitineux marins que nous avons produits. Il était également important de vérifier l'effet de ces composts sur des maladies végétales d'origine fongique et sur des champignons bénéfiques, les mycorhizes.

L'étude de la NHF et de l'effet d'inhibition de la croissance de champignons phytopathogènes durant le compostage a permis de déterminer une corrélation entre ces deux caractères. On a pu remarquer que les courbes de la NHF et celle du caractère fongistatique se suivaient sensiblement. Chaque ajout de carapaces de crevettes correspondait à une augmentation à la fois de la NHF et du caractère fongistatique. A ce moment, les carapaces de crevettes sont dégradées en oligomères de chitine et de chitosane. Lorsque les oligomères atteignent une taille de 2 à 9 résidus (Roy, 1996) ils sont détectables par le test mesurant la NHF. De même, ce sont des oligomères de taille semblable (polymères de 6 à 7 résidus) qui ont activité antifongique maximale qui amènent l'effet d'inhibition de la croissance (Kendra et Hadwiger, 1984). On remarque que lors de la deuxième phase thermophile, l'effet inhibiteur atteint un niveau plus élevé que la première phase alors que la NHF est à peu près égale au cours des 2 phases thermophiles (voir figure 4). L'effet d'inhibition de la croissance ne peut donc pas seulement s'expliquer par la présence d'oligomères de chitine. Il est possible que les microorganismes ayant déjà été stimulés durant la première phase thermophile aient pu produire plus de composés antifongiques et antimicrobiens lors de la deuxième phase. De ce fait, les travaux de Leclerc (1997) ont montré que les populations chitinolytiques et cellulolytiques augmentaient suite aux amendements en carapaces de crevettes, donc durant la phase thermophile. En fin de

compostage, on remarque que l'effet inhibiteur diminue grandement et que la NHF s'atténue. Cette diminution de l'effet peut s'expliquer par l'utilisation des oligomères et l'instabilité de certains métabolites microbiens. Deux types de bois (feuillus et résineux) ont été utilisés comme intrant des composts pour voir l'effet possible des composés phénoliques et d'autres composés toxiques contenus dans les sciures de résineux sur l'effet d'inhibition de la croissance des champignons phytopathogènes des composts. Suite aux résultats obtenus, on peut conclure que les composts composés de sciures de résineux se comportent comme les composts de sciures de feuillus (voir figure 4). De plus, les populations de ces composts sont similaires et le produit final est relativement semblable (Leclerc, 1997)

Les composts de résidus chitineux ont été testés pour leur capacité à agir sur la croissance de champignons phytopathogènes. Il est reconnu que les oligomères de chitosane ont la propriété de diminuer la croissance de champignons phytopathogènes (Allan et Hadwiger, 1979; Hirano et Nagao, 1989). En mettant en contact une infusion de compost et un mycélium fongique, les composés chitineux solubles auraient pu apporter une réduction de la croissance des champignons phytopathogènes. En général, on a observé que les composts de carapaces de crevettes augmentaient le poids du mycélium fongique des champignons testés (voir section 3.1). Une exception est apparû, le compost FTS(R) amendé a partiellement inhibé le champignon *Pythium ultimum*..

Il est dans la nature même d'un compost de permettre une meilleure croissance des plants et de la microflore de par son contenu en matière minérale et organique et il semble que la quantité d'oligomères de chitosane qui étaient présents dans les composts à la fin du compostage ne soit pas suffisante pour entraîner une réduction de croissance de la plupart des champignons. Dans cette expérience, des infusions de compost stérilisées ont été testées, donc seulement les composés chimiques ont été évaluées pour leur capacité à influencer sur la croissance des champignons phytopathogènes. Le fait que les infusions de composts matures n'inhibent pas la croissance de *Phytophthora* alors qu'on observait une inhibition à des moments variables du

processus de compostage pourrait s'expliquer par le fait que ces infusions de composts matures ont été réalisés 6 mois après la fin du compostage. Durant ces 6 mois, les composts ont été conservés à 4°C. L'effet inhibiteur a été perdu suite à cet entreposage. Des tests similaires entrepris avec des composts de résidus chitineux ayant subi un entreposage moins prolongé et/ou dans des conditions différentes pourraient montrer des taux d'inhibition supérieurs.

Les test d'inhibition de la croissance de champignons phytopathogènes a été fait à partir dans un milieu riche de façon à pouvoir comparer les résultats obtenus avec celui de Li (1993) qui avait expérimenté l'effet de la chitine et de ses oligomères sur des champignons. Cependant, l'utilisation d'un milieu riche a pu favoriser la croissance des champignons phytopathogènes au détriment de l'effet inhibiteur des infusions de compost, amenant ainsi des résultats qui semblent négatifs.

L'exception présentée par l'infusion de compost FTS(R) amendé et le champignon *Pythium* peut possiblement être expliquée par les travaux effectués par Ringer *et al* (1997). Ils ont démontré la capacité de certains composts de fumier à diminuer l'incidence de *Pythium* et de *Rhizoctonia*. Leurs résultats ont montré que la suppression était plus élevée pour *Pythium* que pour *Rhizoctonia*. Le compost FTS(R) amendé était le seul de nos composts préparé à partir de fumier de mouton. La croissance de *Pythium* aurait pu être suffisamment supprimée par ce compost pour que cette inhibition soit notable contrairement à celle de *R. solani*. Il est donc probable que des composés autres que les carapaces de crevettes et provenant possiblement du fumier aient amené l'effet d'inhibition de la croissance de *Pythium* observé dans le cas du compost FTS(R) amendé.

On a ensuite voulu étudier l'action des composts matures de résidus chitineux sur certaines maladies végétales d'origine fongique. Nous avons étudié plus particulièrement la fonte de semis chez le concombre par *Pythium ultimum*; l'infection de plants de fraisiers par

Phytophthora (stèle rouge) et la rhizoctonie chez la pomme de terre. Les symptômes de deux des trois maladies étudiées ont été réduits avec l'utilisation des composts de résidus chitineux.

Chez le concombre, on remarque que la présence des composts FTS(R) amendé et CT₂S₂ amendé diminue sensiblement le pourcentage de mortalité des plantules (voir section 3.4.1). En effet, le compost FTS(R) amendé diminue de près de 13% le pourcentage de mortalité du concombre de variété "Sweet slice" alors que le compost CT₂S₂ amendé le diminue de 34%. Chez la variété "Carmen", des diminutions ont été remarquées mais elles sont moins prononcées. Le compost CT₂S₂ est le compost réduisant le plus le pourcentage de mortalité alors que notre compost témoin, le compost commercial, n'offre qu'une faible diminution de la mortalité des plantules de concombre. La littérature reconnaît plusieurs composts capables de diminuer l'incidence de la fonte de semis chez le concombre causée par *Pythium* (Theodore et Toribio, 1995; Ringer *et al*, 1997).

Pour l'expérience sur la rhizoctonie de la pomme de terre, une différence notable de la sévérité des lésions a été notée. En effet, la forme, la couleur et l'aspect des tissus des tiges souterraines de pommes de terre différaient lorsqu'en présence des divers composts (voir section 3.4.4). Les plants de pommes de terre ayant poussé en présence de compost commercial présentaient des taches foncées plus ou moins grandes et avec un niveau de macération des tissus variables. Les plants de pommes de terre en présence des composts FTS(R) amendé et CT₂S₂ amendé montraient des lésions plus allongées, plus pâles et non nécrosées (voir tableau 9). L'indice de la sévérité de la rhizoctonie a été diminué de 3,5 à 4,6 points lorsque les plants ont été mis en présence des composts FTS(R) amendé et CT₂S₂ amendé (voir tableau 10). Cette diminution est telle que les plants inoculés en présence de ces composts ont obtenu un indice de sévérité semblable aux traitements non-inoculés. La sévérité de la rhizoctonie a donc été réduite au minimum en présence des composts.

Les raisons pouvant expliquer les effets positifs des composts sont nombreuses. On peut les classer en trois grandes catégories: 1° l'effet direct des composts sur les champignons phytopathogènes; 2° l'effet des composts sur le système de défense de la plante et 3° l'effet de la microflore du compost sur les champignons phytopathogènes. Comme de façon générale les infusions de composts ne diminuaient pas la croissance des champignons phytopathogènes (voir section 3.4.1), on peut donc penser que les effets directs (inhibition) des composantes physico-chimiques des composts sur la populations des champignons sont minimales lorsque les composts sont matures. Les effets directs de ces composantes physico-chimiques n'ont été observés durant le compostage qu'aux phases thermophiles, on peut donc suggérer que ces composantes sont reliées à la dégradation de l'amendement en carapaces de crevettes et à la modification de la microflore durant cette élévation de température. L'utilisation d'un milieu moins riche aurait également pu révéler une certaine inhibition dans les composts matures qui n'est pas apparue dans le milieu riche utilisée.

Le compost possède une microflore et une microfaune. Certains de leurs composantes peuvent être antagonistes aux champignons phytopathogènes. Theodore et Toribio (1995) ont étudié des composts amenant une réduction de la maladie causée par *Pythium aphanidermatum* chez le concombre. Ils ont réalisé que cette réduction de la maladie étaient due à des microorganismes du compost antagonistes à *Pythium*. De Brito Alvarez *et al* (1995) ainsi que Ringer *et al* (1997) ont remarqué que la réduction de maladies causées par *Pythium* et *Rhizoctonia* en présence de divers composts était d'origine microbienne. La flore microbienne de nos composts de résidus chitineux est constituée en grande partie d'actinomycètes (Leclerc, 1997). Elle a pu interagir avec les champignons phytopathogènes et limiter leur croissance soit en compétitionnant avec ceux-ci ou en inhibant leur croissance de façon indirecte en sécrétant des composés antimicrobiens. Il est d'ailleurs reconnu que les actinomycètes et en particulier *Streptomyces* sont antagonistes à plusieurs champignons phytopathogènes dont *Pythium* (Crawford *et al*, 1993). Les effets positifs des composts FTS(R) amendé et CT₂S₂ amendé pourraient donc être dus à la microflore antagoniste des composts.

Suite aux expériences effectuées sur l'induction, par les infusions de composts, des glucanases et des chitinases chez la tomate, on peut supposer que les composts de résidus chitineux matures activent les systèmes de défense des plantes. Cette expérience a été faite sur des graines de tomates. Il en résulte que l'activité des glucanases présentent dans les plantules de tomates a significativement augmentée par la présence d'infusion de composts de résidus chitineux (voir section 3.3). La quantité de chitinases chez la tomate n'est pas influencée par la présence de composts de résidus chitineux, ni par le chitosane. Ceci peut paraître surprenant mais correspond aux résultats obtenus par Li *et al* (1995). Puisque chez la tomate on observe une activation des systèmes de défense suite au contact avec les infusions de composts de résidus chitineux, on peut supposer que ce mécanisme pourrait participer à la protection de la tomate et même d'autres plantes. D'ailleurs plusieurs auteurs ont conclu que les oligomères de chitine sont inducteurs des mécanismes de défense chez les plantes (Li *et al*, 1995; Kendra et Hadwiger, 1984). Selon Li (1993), la concentration optimale pour induire les chitinases et les glucanases chez la tomate est de l'ordre de 200 µg/ml alors que pour inhiber la croissance du champignon phytopathogène *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*, la concentration maximale est d'environ 2 mg/ml. L'effet inducteur des mécanismes de défense des plantes apparaît donc à des concentrations plus faibles que celles utilisées pour évaluer l'effet inhibiteur de champignons phytopathogènes. Il est possible que les oligomères de chitosane présents dans nos composts aient induit la production de chitinases et de glucanases sans toutefois être en quantité suffisante pour inhiber *Phytophthora*. L'expérience faite sur la pomme de terre et *Rhizoctonia solani* AG3 en présence des composts de résidus chitineux a montré des lésions dont la forme allongée ressemble à une réponse de défense (réponse d'hypersensibilité) de la plante vis à vis un agresseur.

Un ou plusieurs des facteurs décrits précédemment (inhibition de la croissance des champignons phytopathogènes, modification de la microflore, activation des mécanismes de défense) ont fait que les plants en présence des composts FTS(R) amendé et CT₂S₂ amendé ont

montré une réduction de la sévérité des symptômes. Des études plus approfondies seront nécessaires pour établir le mécanisme le plus important dans cette protection.

Le système fraisier-*Phytophthora* n'a pas répondu comme les deux décrits auparavant. On a remarqué que les composts FTS(R) amendé et CT₂S₂ amendé augmentaient l'indice d'infection de *Phytophthora* chez le fraisier. Il semble que les composts n'aient pas eu d'effets inhibiteurs sur l'apparition des oogones de *Phytophthora*. Ce résultat laisse perplexe. En effet, des recherches faites sur le poivron ont montré que des sols amendés en résidus de carapaces de crabes ou en chitosane diminuaient l'incidence de la maladie causée par *Phytophthora capsici* (Kim *et al*, 1997). Cependant, Widmer *et al* (1996) travaillant sur l'effet d'amendement de déchets ménagers compostés sur la croissance des citronniers et *Phytophthora nicotianae* ont observé des résultats similaires aux nôtres. Ils ont remarqué que la croissance et le rendement des citronniers étaient augmentés en présence du compost même si la population de *P. nicotianae* était significativement plus élevée dans le sol amendé en compost que dans le sol non-amendé. Les éléments nutritifs des composts de carapaces de crevettes ont pu aider *Phytophthora fragariae* à croître dans ces conditions et à se retrouver dans les racines des fraisiers. Il semble donc que les propriétés fertilisantes des composts de résidus chitineux aient eu en effet plus important que les propriétés phytoprotectrices et fongistatiques. Les conditions de croissance dans lesquelles l'expérience s'est déroulée a également pu favoriser la croissance du champignon.

Malgré le nombre plus élevé d'oogones dans les racines de fraisiers en contact avec nos composts, ces plants étaient visuellement en bonne santé. Ces plants ne montraient aucun signe de dépérissement attribuable à une infection, les plants de fraisiers sont restés visuellement sains et ce, malgré la présence d'oogones dans les racines de fraisiers. La méthode utilisée pour évaluer la sévérité de la maladie dans cette expérience est moins directe que pour les expériences sur le concombre et la pomme de terre. La présence d'oogones dans les racines de fraisier n'est pas nécessairement le gage d'une diminution de rendement chez la plante alors que

pour les deux autres plantes, la présence de symptômes s'accompagne d'une productivité moindre. Des travaux de plus longue durée et avec des essais aux champs seraient indispensables pour évaluer l'effet réel des composts de résidus chitineux sur la stèle rouge du fraisier.

Puisque que nous avons reconnu l'effet des composts de résidus chitineux sur certaines maladies fongiques, nous avons voulu étudier l'effet de ces composts sur la mycorhization. Les applications futures des composts en agriculture devront considérer les effets que ceux-ci peuvent avoir sur les champignons mycorhizateurs (Douds *et al*; 1997) puisque contrairement aux maladies vues précédemment, la mycorhization est un phénomène bénéfique pour les plantes. Le système fraisier-*Glomus intraradices* a été choisi pour cette expérience. Les résultats obtenus montrent que les composts de résidus chitineux amènent une légère diminution du nombre de mycorhizes dans les racines de fraisiers qui n'est cependant pas significative. Si cette réduction existe, il est important de mentionner que la mycorhization n'est tout de même pas empêchée. Tarkalson *et al* (1998) ont observé une diminution de l'efficacité de la mycorhization chez la fève *Phaseolus vulgaris* L. cv. Viva ayant été cultivé en présence de fumier composté comparativement à un terreau. Cependant, comparé à un sol sablonneux, ce même compost amenait une augmentation de la mycorhization. Notre substrat de base étant constitué de sable, de terre et de vermiculite, il est donc possible en extrapolant de penser que les effets de nos composts auraient été différents si l'expérience s'était déroulée dans un substrat de base plus pauvre. Ces auteurs ont également observé que le poids racinaire des plants poussés en présence de compost était plus faible que ceux ayant poussés en présence de terreau et que cela avait semblé diminuer l'efficacité de la mycorhization. N'ayant pas prélevé le poids racinaire des plants de fraise, il est difficile de conclure dans ce sens mais c'est une explication plausible. Des expériences futures entreprises en tenant compte du substrat utilisé et de l'importance que tient le poids racinaire seraient intéressantes pour apporter plus de conclusions à cette expérience. Des essais se déroulant aux champs seraient également souhaitables.

En définitive, les composts de résidus chitineux possèdent des propriétés phytoprotectrices et fongistatiques. Cependant, ces effets ne peuvent être généralisés à tous les systèmes plante-agent pathogène. En effet, les composts ont réagi différemment selon les systèmes. Le compost FTS(R) amendé semble être plus efficace que le compost CT₂S₂ amendé pour réduire la sévérité des lésions de la rhizoctonie chez la pomme de terre alors que pour le système concombre-*Pythium*, on remarque l'effet contraire. Pour le système fraisier-*Phytophthora*, nos composts de résidus chitineux ont semblé augmenter le pourcentage d'oogones dans les racines de fraisier. Donc, selon les systèmes, l'effet du compost serait différent, il pourrait même s'avérer nuisible dans certains cas. Il n'y a donc pas de possibilité de prédire exactement les effets du compost sur un agent pathogène d'origine fongique ou sur la mycorhization, d'où l'importance d'étudier chaque système séparément. Il serait également important d'étudier les effets des composts selon les conditions environnementales et les sols, les effets des composts pouvant être différents au champ que ceux évalués sous conditions contrôlées.

CONCLUSION

Les recherches effectuées sur les composts de résidus chitineux ont permis de valider que ces composts ont la capacité de réduire le fonte de semis chez le concombre causée par *Pythium ultimum* et la rhizoctonie chez la pomme de terre causée par *Rhizoctonia solani*.

Contrairement à nos premières hypothèses, la réduction de la croissance de ces agents pathogènes ne semblent pas être due à un effet direct des oligomères de chitine des composts sur ces champignons phytopathogènes. Des essais supplémentaires pourraient être entrepris pour déterminer si ces résultats sont dus à des amendements en carapaces de crevettes trop faibles, une maturation des composts trop longue ou à un entreposage trop prolongé.

La diminution de l'incidence de la fonte de semis et de la rhizoctonie par les composts de résidus chitineux résulte probablement de la microflore intrinsèque des composts où des microorganismes, principalement des actinomycètes, qui sont antagonistes à plusieurs agents phytopathogènes fongiques. Cette diminution pourrait également s'expliquer par le fait que les composts de résidus chitineux activent le système de défense de la plante notamment en induisant la production de PR protéines (glucanases et chitinases).

Les études sur la capacité des composts de résidus chitineux à réduire la stèle rouge du fraisier causée par *Phytophthora fragariae* var. *fragariae* ont permis de voir que ces composts augmentent la quantité d'oogones dans les racines de fraisier. La plante n'a cependant pas de symptômes de dépérissement. Les composts ne semblent pas avoir d'effet phytoprotecteur ou fongistatique dans ce système. Il semble important d'approfondir ces résultats en répétant cette expérience et en utilisant techniques plus précises pour évaluer la sévérité de la maladie. La durée de cette expérience pourrait être prolongée, de façon à voir les effets des composts à long terme.

Les composts de résidus chitineux n'ont pas eu d'effet réel sur la mycorhization de *Glomus intraradices* sur le fraisier. Cependant, tout comme l'expérience sur la stèle rouge du fraisier, des expériences plus approfondies, expérimenté avec différents substrats et réparties sur un plus grand nombre de semaines pourraient nous permettre de mieux évaluer les effets des composts sur la mycorhization.

En résumé, les composts de résidus chitineux produits dans le cadre de ce projet multidisciplinaire de revalorisation de résidus chitineux par compostage possèdent des propriétés fongistatiques et phytoprotectrices. Des études sont présentement en cours pour vérifier les propriétés fertilisantes des composts de résidus chitineux. Ces études sont effectuées à petite échelle en serre et à grande échelle en champ. A la lumière des résultats de ce travail, il semble déjà que le compost possède des propriétés fertilisantes intéressantes.

Plusieurs composts à base de carapaces de crustacés sont déjà en vente chez différents détaillants. Cependant, aucun d'entre eux n'a été produit dans le but d'obtenir des effets fongistatiques et phytoprotecteurs. L'apparition future sur le marché de composts de résidus chitineux possédant des effets fongistatiques et phytoprotecteurs pourrait intéresser grandement les personnes oeuvrant dans le domaine agricole.

RÉFÉRENCES

ALLAN, C. et L. A. HADWIGER. 1979. The fungical effect of chitosan on fungi of varying cell wall composition. *Experimental Mycology* 3 : 285-587.

BOUHOT, D. 1975 a. Recherches sur l'écologie des champignons parasites dans le sol. V. Une technique sélective d'estimation du potentiel infectieux des sols, terreaux et substrats infestés par *Pythium* sp. Études qualitatives. *Annales de Phytopathologie* 7: 9-18

BOUHOT, D. 1975 b. Recherches sur l'écologie des champignons parasites dans le sol. VII. Quantification de la technique d'estimation du potentiel infectieux des sols, terreaux et substrats infestés par *Pythium* sp. *Annales de Phytopathologie* 7: 147-154.

BOUHOT, D. 1975 c. Recherches sur l'écologie des champignons parasites dans le sol. Technique sélective et quantitative d'estimation du potentiel infectieux des sols, terreaux et substrats infestés par *Pythium* sp. *Annales de Phytopathologie* 7: 155-158.

BRADFORD, M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72: 248-254.

BUREAU DE NORMALISATION DU QUÉBEC (BNQ). 1994. Amendements organiques-composts; Projet de norme P-0413-200-F9, Québec, 21 p.

CRAWFORD, D.L., J. M. LYNCH, J. M. WHIPPS et M. A. OUSLEY. 1993. Isolation and characterization of actinomycetes antagonists of fungal root pathogen. *Applied and Environmental Microbiology* 59: 3899-3905.

DE BRITO ALVAREZ, M.A., S. GAGNE et H. ANTOUN. 1995. Effect of compost on rhizosphere microflora of the tomato and on the incidence of plant growth-promoting rhizobacteria. *Applied and Environmental Microbiology* 61: 194-199.

DE SILGUY, C. 1996. Histoire des hommes et de leurs ordures. Du Moyen âge à nos jours. Collection «Documents», Le cherche midi éditeurs, Paris, France, 225 p.

DESHAIES, Y. et D. BERNATCHEZ. 1994. Guide de la collecte sélective des matières recyclables. Les Publications du Québec, Québec, 135 p.

DIAZ, L.F., G. M. SAVAGE, L. L. EGGERTH et C. G. GOLUEKE. 1993. Composting and recycling municipal solid waste. Lewis Publishers, Boca Raton, 296 p.

DIONNE, I. 1995. Le compostage des résidus verts en andains extérieurs retournés. Mémoire de maîtrise, Faculté des sciences appliquées, Université de Sherbrooke, Sherbrooke, Québec, Canada, 73 p.

DOUDS, D. D. Jr., L. GALVEZ, M. FRANKE-SNYDER, C. REIDER et L. E. DRINKWATER. 1997. Effect of compost addition and crop rotation point upon VAM fungi. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 65: 257-266.

DUNCAN, J. M. 1976. The use of bait plants to detect *Phytophthora fragariae* in soil. *Transactions of the British Mycological Society* 66: 85-89.

EL GHAOUTH, A., J. ARUL, J. GRENIER, N. BENHAMOU, A. ASSELIN et R. BÉLANGER. 1994. Effect of chitosan on cucumber plants: Suppression of *Pythium aphanidermatum* and induction of defense reactions. *Phytopathology* 84: 313-320.

HADWIGER, L. A. et J. M. BECKMAN. 1980. Chitosan as a component of pea-*Fusarium solani* interactions. *Plant Physiology* 66: 205-211.

HADWIGER, L. A., B. FRISTENSKY et R. C. RIGGLEMAN. 1984. Chitosan, a natural regulator in plant-fungal pathogen interactions, increases crop yields. In *Chitin, chitosan and related enzymes*, Academic Press, Inc., pp.291-302.

HADWIGER, L. A., T. OGAWA et H. KUYAMA. 1994. Chitosan polymer sizes effective in inducing phytoalexin accumulation and fungal suppression are verified with synthesized oligomers. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 7 : 531-533.

HIRANO, S., M. HAYASHI, T. NISHIDA et T. YAMAMOTO. 1998. Chitinase activity in some seeds during their germination process and its induction by treating with chitosan and derivatives. In *Chitin and chitosan: source, chemistry, biochemistry, physical properties and applications*, Skjak-Brk G., Anthonsen T. and Sandford P., Elsevier Applied Science, London, pp.743-747.

HIRANO, S. et N. NAGAO. 1989. Effects of chitosan, pectic acid, lysosyme, and chitinase on the growth of several phytopathogens. *Agricultural and Biological Chemistry* 53: 3065-3066.

HOITINK, H.A.J. et M. E. GREBUS. 1994. Status of biological control of plant disease with composts. *Compost Science and Utilization* 2 (2): 6-12.

KENDRA, D. F. et L. A. HADWIGER. 1984. Characterization of the smallest chitosan oligomer that is maximally antifungal to *Fusarium solani* and elicits pisatin formation in *Pisum sativum*. *Experimental mycology* 8: 276-281.

KIM, K.D., S. NEMEC et G. MUSSON. 1997. Effects of composts and soil amendments on soil microflora and *Phytophthora* root and crown rot of bell pepper. Crop protection 16: 165-172.

LECLERC, P. 1997. Caractérisation microbiologique des composts à base de résidus chitineux. Mémoire de maîtrise, Département de biologie, Université de Sherbrooke, Sherbrooke, Québec, Canada, 62 p.

LESSOURD, J. A. et C. GÉRARD. 1992. Nouvelle histoire économique. Tome I, Le XIX^e siècle. Armand Colin éditeurs, Paris, France. 336 p.

LI, T. 1993. Production of chitosanase by recombinant *Streptomyces lividans* and enzymatic preparation of chitosan oligomers. Mémoire de maîtrise, Département de biologie, Université de Sherbrooke, Sherbrooke, Québec, Canada, 98 p.

LI, T., R. BRZEZINSKI et C. BEAULIEU. 1995. Enzymatic production of chitosan oligomers. Plant Physiol. Biochem. 33: 599-603.

MUSTIN, M. 1987. Le compost - gestion de la matière organique. Editions François Dubuc. 75015 Paris, 954 p.

OTRYSKO, B.E., G. J BANVILLE et A. ASSELIN. 1988. Influence du degré de dépendance des tubercules-fils de pommes de terre vis-à-vis de la plante-mère sur leur infestation par *Rhizoctonia solani*. Potato Research 31: 617-625.

OTRYSKO, B. E. et G. J. BANVILLE. 1992. Effect of infection by *Rhizoctonia solani* on the quality of tubers for processing. American Potato Journal 69: 645-652.

OUMET, R., C. CAMIRÉ et V. FURLAN. 1995. Endomycorrhizal status of maple sugar in relation to tree decline and foliar, fine roots, and soil chemistry in the Beauce region. *Canadian Journal of Botany* 73: 1168-1175.

PELCZAR, M. J., E. C. S. CHAN et N. R. KRIEG. 1986. *Microbiology*. 5ème édition. McGraw-Hill, Inc, New York, 918 p.

PELLETIER, D. 1993. Guide de la collecte et du compostage des résidus verts. Les publications du Québec, Québec, 85 p.

POTVIN, D. et R. CLOUTIER. 1990. Le compostage au Québec: problématique technique et inventaire des matériaux. Centre québécois de valorisation de la biomasse, Sainte-Foy (Québec), 223 p.

REISSIG, J.L., J. L. STROMINGER et L. F. LELOIR. 1955. A modified colorimetric method for the estimation of N-acetylaminosugars. *Journal of Biol. Chem.* 217: 959-966

RIOUX, J. P. 1971. La révolution industrielle 1780-1880. Collection Points, Série Histoire, Éditions du Seuil, Paris, France, 248 p.

RINGER, C.E., P. D. MILLNER, L. M. TEERLINCK et B. W. LYMAN. 1997. Suppression of seedling damping-off disease in potting mix containing animal manure composts. *Compost Science and Utilization* 5 (2): 6-14.

ROY, S. 1996. Revalorisation de la biomasse chitineuse par compostage. Mémoire de maîtrise, Département de biologie, Université de Sherbrooke, Sherbrooke, Québec, Canada, 78 p.

ROY, S., P. LECLERC, F. AUGER, G. SOUCY, C. MORESOLI, L. CÔTÉ, D. POTVIN, C. BEAULIEU et R. BRZEZINSKI. 1997. A novel two-phase composting process using shrimp shells as an amendment to partly composted biomass. *Compost Science and Utilization* 5 (4): 52-64.

SENG, J.M. 1987. Chitine, chitosane et dérivés: de nouvelles perspectives pour l'industrie. *Biofutur* 71: 41-44.

SPIRO, R. G. 1966. Analysis of sugars found in glycoproteins. *Methods in Enzymology* 8: 7-9.

TARKALSON, D. D., V. D. JOLLEY, C. W. ROBBINS et R. E. TERRY. 1998. Mycorrizal colonization and nutrient uptake of dry bean in manure and compost manure treated subsoil and untreated topsoil and subsoil. *Journal of Plant Nutrition* 21: 1867-1878.

TRNEE, TABLE RONDE NATIONALE SUR L'ENVIRONNEMENT ET L'ÉCONOMIE. 1991. Le guide national de réduction des déchets. Table ronde nationale sur l'environnement et l'économie, Canada, 134 p.

TECHNICAL INSIGHTS. 1989. Chitin and chitosan - Specialty biopolymers for foods, medicine and industry. Technical Insights, Inc. Englewood / Fort Lee, NJ, 209 p.

THEODORE, M. et J. A. TORIBIO. 1995. Suppression of *Pythium aphanidermatum* in composts prepared from sugarcane factory residus. *Plant and Soil* 177 (2) : 219-223.

U.S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (E. P. A.). 1993. Code of federal regulations: Standards for the use and disposal of sewage sludge. No. 40, Part 503, Washington, U.S.A, 58 pages.

WIDMER, T.L., J.H. GRAHAM et D. J. MITCHELL. 1996. The effect of composted municipal waste as a soil amendment on the growth of young citrus trees and *Phytophthora nicotianae*. Soil and Crop Science Society of Florida Proceedings 55: 32-36.